



INSTITUTO POLITÉCNICO DE COIMBRA
ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA

Mestrado em Engenharia Alimentar

Relatório de Estágio Profissionalizante

**Desenvolvimento de um novo produto alimentar: doce de
medronho sem adição de sacarose**

Cristina de Vasconcelos Costa Rodrigues

Coimbra, 2013



INSTITUTO POLITÉCNICO DE COIMBRA
ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA

Mestrado em Engenharia Alimentar

Relatório de Estágio Profissionalizante

**Desenvolvimento de um novo produto alimentar: doce de
medronho sem adição de sacarose**

Cristina de Vasconcelos Costa Rodrigues

Orientador: Doutora Goreti Botelho

Co-orientador: Mestre Ivo Rodrigues

Local de estágio: Escola Superior Agrária de Coimbra

Coimbra, 2013

Este Relatório de Estágio Profissionalizante foi elaborado expressamente para a obtenção de grau de Mestre de acordo com o despacho nº 19151/2008 de 17/07/2008, referente ao Regulamento do Ciclo de Estudos conducente à obtenção do grau de Mestre do Instituto Politécnico de Coimbra.

Agradecimentos

Os mais sinceros agradecimentos a todos os que me acompanharam no meu percurso académico e que me apoiaram durante esta fase da vida.

A todos os professores que não só me acompanharam no meu processo de aprendizagem mas que se dedicaram a todo o ensino e esforço.

À Professora Goreti Botelho, minha orientadora e mentora, por todo o apoio, esforço e dedicação prestado mesmo nas alturas mais complicadas.

Ao Professor Ivo Rodrigues, co-orientador, pela ajuda imprescindível e todo o apoio prestado.

A toda a equipa do projeto intitulado MedroJelly4Diet, da qual fizeram parte a Professora Goreti Botelho, Professora Fernanda Ferreira, Professora Sara Proença e Carolina Santos, pela colaboração prestada desde a ideia ao plano de negócios.

À Professora Susana Dias pelo auxílio prestado no desenvolvimento das análises microbiológicas.

Ao Senhor Jorge Viegas por toda a ajuda cedida e pelo apoio na realização das análises físico-químicas.

Ao Senhor Jorge Arede, D. Adélia, D. Lurdes e ao Professor David Gomes que nunca negam dar auxílio.

À professora Filomena Gomes por fornecer contactos de produtores de medronho que tornaram viável este trabalho.

Ao Senhor Jorge Simões, produtor de medronhos na região de Oleiros, pela simpatia e colaboração ao ceder medronhos para o estudo.

Um agradecimento especial ao meu pai, à minha avó e ao Sérgio por toda a dedicação, compreensão, apoio, amor e paciência durante todo este tempo, com dias bons e maus, mas sempre a meu lado.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi o de desenvolver um doce de medronho com baixo teor de açúcares. O doce foi formulado com a adição de um edulcorante extraído da planta *Stevia reubadiana* Bertoni, de forma a tornar-se adequado para consumidores com diabetes e excesso de peso/obesidade. Realizaram-se várias formulações procurando um novo produto que satisfaça as necessidades de consumidores em regime de restrição de açúcares, com as características sensoriais idênticas às dos doces comerciais. Foram realizadas duas provas de análise sensorial, com recurso a provadores não treinados, de modo a selecionar o doce com maior aceitabilidade. Na primeira prova, avaliou-se a preferência entre dois doces (teste de preferência bilateral) e, na segunda prova, com quatro doces, avaliaram-se o aspeto visual, aroma, sabor, textura, apreciação global (testes de escala hedónica), intenção de compra (escala de atitude) e, por fim, a ordem de preferência (teste de ordenação de preferência). Os resultados obtidos permitiram escolher a formulação que apresentou a melhor aceitação e deu-se início ao estudo de tempo de vida útil do doce com o recurso a análises físico-químicas e microbiológicas. As análises microbiológicas foram realizadas de modo a determinar o teor de mesófilos aeróbios totais, teor de bolores e leveduras, teor de bactérias lácticas e de *Bacillus thermoacidurans*. Nas análises físico-químicas do doce avaliou-se o teor de sólidos solúveis, pH, textura, atividade da água, cor e acidez total, tendo sido a matéria-prima caracterizada em termos de pH e do teor de sólidos solúveis. Durante o processamento do produto foi determinado o teor de sólidos solúveis, pois pretendeu-se um produto final com 35 °Brix. Foi avaliada também a composição nutricional do medronho e do doce de medronho. Ao longo dos seis meses de estudo do tempo de vida útil do doce, não foram verificadas diferenças relevantes nas suas características físico-químicas e microbiológicas, indicando a manutenção da sua estabilidade.

Palavras-chave: Doce de medronho, stevia, análises sensoriais, análises físico-químicas, análises microbiológicas, formulação, tempo de vida útil, inovação.

Abstract

The objective of this study was to develop a strawberry-tree jam with low sugar content. The jam was formulated by adding a sweetener extracted from the plant *Stevia reubadiana* Bertoni, in order to become suitable for consumers with diabetes and overweight/obesity. Various formulations were done looking for a new product which satisfies the needs of consumers in diet under sugars restriction, with the sensorial characteristics similar to commercial jams. Two sensory tests were performed, with the use of untrained tasters, in order to select the jam with greater acceptability. In the first test, a preference test between two jams (bilateral preference test) was performed. In the second test, with four jams, the visual aspect, aroma, taste, texture, overall assessment (hedonic scale tests), purchase intent (attitude scale test) and, finally, the order of preference (ranking preference test) were evaluated. The obtained results enabled to choose the formulation with the greatest acceptance and we began the study of the jam shelf life with the use of physical, chemical and microbiological analyses. The microbiological analyses were performed in order to determine the total aerobic mesophilic content, molds and yeasts, lactic acid bacteria content and *Bacillus thermoacidurans*. The physico-chemical analyses of the jam evaluated the soluble solids content, pH, texture, water activity, colour and total acidity, being raw material characterized in terms of pH and soluble solids content. During the processing of the product the soluble solids content was determined because it was intended to a final product with 35° Brix. The nutritional composition of strawberry-tree and strawberry-tree jam was also evaluated. Over the six months of jam shelf life study, no important differences were observed in its physical-chemical and microbiological characteristics, indicating the maintenance of jam stability.

Key-words: Strawberry-tree jam, stevia, sensorial analysis, physical and chemical analysis, microbiological analysis, formulation, shelf life, innovation.

Índice

Agradecimentos.....	ii
Resumo.....	iii
Abstract	iv
Índice de figuras	viii
Índice de tabelas	ix
Lista de abreviaturas e símbolos	xi
Financiamento	xiii
Participação em concursos regionais de empreendedorismo	xiv
Outras participações	xv
1. Introdução.....	17
2. Definição e descrição de doces de frutos.....	19
2.1. Os açúcares presentes nos doces	19
2.2. Análise do mercado nacional de doces, compotas e geleias	21
2.3. Formulação de doces sem adição de sacarose	22
3. Interesse no desenvolvimento de doce de medronho sem adição de sacarose	23
3.1. Justificação do interesse potencial do doce de medronho sem adição de sacarose em diversas patologias.....	25
3.1.1. Diabetes.....	25
3.1.2. Obesidade.....	26
4. Descrição dos principais ingredientes usados na formulação do doce de medronho sem adição de sacarose	29
4.1. Descrição do medronho (<i>Arbutus unedo</i> L.)	29
4.2. Água	34
4.3. Sumo concentrado de uva branca.....	34
4.4. Aditivos alimentares.....	35
4.4.1. Antioxidantes e reguladores de acidez	37
4.4.1.1. Ácido cítrico.....	37
4.4.1.2. Citrato de cálcio	38
4.4.2. Emulsionantes, estabilizadores, espessantes e gelificantes	39
4.4.2.1. Pectina	39
4.4.2.2. Alginato de sódio	41
4.4.2.3. Goma de alfarroba.....	42
4.4.3. Conservantes	42
4.4.3.1. Sorbato de potássio.....	43

4.4.4.	Edulcorantes	43
4.4.4.1.	Descrição da planta <i>Stevia reubadiana</i>	48
4.4.4.1.1.	Composição físico-química e nutricional da stevia.....	49
4.4.4.1.2.	Constituintes com capacidade edulcorante da stevia, os glicosídeos de esteviol	50
4.4.4.1.3.	Propriedades terapêuticas da stevia	52
4.4.4.1.4.	Características toxicológicas da stevia	55
4.4.4.1.5.	Legislação aplicável ao uso alimentar da stevia.....	55
5.	Materiais e métodos.....	56
5.1.	Desenvolvimento do produto	56
5.2.	Controlo analítico do doce durante a fase de melhoramento da formulação.....	59
5.3.	Controlo físico-químico do doce durante o estudo de tempo de vida útil.....	59
5.3.1.	Análise de textura.....	60
5.3.2.	Análise da atividade da água	60
5.3.3.	Análise da cor.....	60
5.3.4.	Análise do pH.....	61
5.3.5.	Análise do teor de sólidos solúveis	61
5.3.6.	Acidez total	62
5.4.	Controlo microbiológico do doce durante o estudo de tempo de vida útil.....	62
5.5.	Análise sensorial	64
5.6.	Análise estatística.....	65
5.7.	Análises nutricionais	66
6.	Resultados e discussão	67
6.1.	Desenvolvimento do produto	67
6.2.	Resultados analíticos do doce durante a fase de formulação	67
6.3.	Resultados das análises físico-químicas ao doce durante o estudo de tempo de vida útil	69
6.3.1.	Resultados das análises de textura.....	69
6.3.2.	Resultados das análises da atividade da água.....	70
6.3.3.	Resultados das análises da cor.....	71
6.3.4.	Resultados das análises do pH.....	72
6.3.5.	Resultados dos teores de sólidos solúveis	72
6.3.6.	Resultados das análises da acidez total	73
6.4.	Resultados do controlo microbiológico do doce durante o estudo de tempo de vida útil 74	
6.5.	Resultados das provas sensoriais.....	77
6.5.1.	Teste de preferência bilateral	77

6.5.2. Testes de escala hedónica, escala de atitude e ordem de preferência	77
6.6. Resultados das análises nutricionais	85
7. Conclusão	96
8. Bibliografia.....	98
9. Anexos.....	113
Anexo I – Material e equipamento utilizado no controlo físico-químico do doce durante o estudo de tempo de vida útil.....	114
Anexo II – Materiais, equipamentos, soluções e meios de cultura utilizados no controlo microbiológico do doce durante o estudo de tempo de vida útil.....	115
Anexo III - Preparação de amostras, meios de cultura e sementeiras através de Normas Portuguesas no controlo microbiológico do doce durante o estudo de tempo de vida útil	116
Preparação da amostra	116
Determinação do teor de mesófilos aeróbios totais (Norma portuguesa NP-1409 de 1987) .	116
Determinação do teor de bolores e leveduras (Norma portuguesa NP 3277-1 de 1987)	117
Determinação do teor de bactéria lácticas (Norma portuguesa NP 2309-2 de 1988)	117
Determinação do teor de <i>Bacillus thermoacidurans</i> (Norma portuguesa NP 2309-2 de 1988)	118
Anexo IV – Descrição e ficha da primeira prova sensorial.....	119
Anexo V – Descrição e ficha da segunda prova sensorial	120
Anexo VI - Tabela com o número mínimo (crítico) de respostas corretas para os testes de diferença mais usuais a dois níveis de significância	124

Índice de figuras

Figura 1 - Quantidades produzidas e vendidas (em toneladas) de doces, compotas e geleias em Portugal e seu valor de vendas (10^3 €) com representação da média aproximada do preço por quilograma entre 2004 a 2011 (INE 2007, 2009, 2010, 2011, 2012).....	21
Figura 2 – a) Medronheiro com flor e fruto; b) Fruto do medronheiro, o medronho.....	29
Figura 3 – Pectina de baixo teor de metoxilação (Siguemoto, 1993).....	41
Figura 4 – Planta <i>Stevia reubadiana</i> Bertoni	48
Figura 5 – Estrutura de dois glicosídeos de esteviol (WHO, 2006)	51
Figura 6 – Diagrama de produção do doce de medronho sem adição de sacarose.....	58
Figura 7 – a) Cabines de prova sensorial; b) Tabuleiro cedido a cada provador.	65
Figura 8 – Resultados da análise do pH (média \pm desvio padrão) do doce de medronho a temperaturas de 20 e 37 °C ao longo de seis meses.	72
Figura 9 – Resultados das análises da acidez total expressa em ácido cítrico (média \pm desvio padrão) no doce de medronho a temperaturas de 20 °C e 37 °C ao longo de seis meses.	74
Figura 10 – Histograma dos resultados da análise sensorial do doce de medronho, em relação aos valores hedónicos atribuídos na avaliação do aspeto visual (1 = desgostei extremamente a 9 = gostei extremamente).	78
Figura 11 – Histograma dos resultados da análise sensorial do doce de medronho, em relação aos valores hedónicos atribuídos na avaliação do aroma/odor (1 = desgostei extremamente a 9 = gostei extremamente).	79
Figura 12 – Histograma dos resultados da análise sensorial do doce de medronho, em relação aos valores hedónicos atribuídos na avaliação do sabor (1 = desgostei extremamente a 9 = gostei extremamente).	80
Figura 13 – Histograma dos resultados da análise sensorial do doce de medronho, em relação aos valores hedónicos atribuídos na avaliação da textura (1 = desgostei extremamente a 9 = gostei extremamente).	80
Figura 14 – Histograma da avaliação da apreciação global dos doces de medronho numa escala hedónica de 1 a 9 (desgostei extremamente a gostei extremamente).	81
Figura 15 – Histograma dos resultados da análise sensorial do doce de medronho, em relação aos valores da escala de atitude atribuídos na avaliação da intenção de compra (1 = decididamente não compraria a 5 = decididamente compraria).	82
Figura 16 – Histograma dos resultados da análise sensorial do doce de medronho, em relação à avaliação da ordem de preferência dos doces de medronho (sendo o 1 o menos preferido e o 4 o mais preferido).	83

Índice de tabelas

Tabela 1 - Características físico-químicas do medronho	30
Tabela 2 - Composição mineral do medronho	31
Tabela 3- Propriedades terapêuticas do medronheiro	33
Tabela 4 – Classificação de alguns aditivos alimentares (Reg. nº 1333/2008)	36
Tabela 5 – Edulcorantes sintéticos (Adaptado de: Cândido e Campos, 1996; Hark, 2005; Lidon e Silvestre, 2007; Morris, 2006).....	45
Tabela 6 – Edulcorantes naturais (Adaptado de: Cândido, 1996; Hark, 2005; Lidon e Silvestre, 2007; Morris, 2006;).	47
Tabela 7 – Composição nutricional de folhas secas de stevia (g/100g base seca)	49
Tabela 8 - Conteúdo de minerais de folhas secas de stevia (mg/100g).....	50
Tabela 9 – Propriedades medicinais de stevia.....	53
Tabela 10 – Formulações desenvolvidas com as quantidades percentuais dos ingredientes adicionados.....	57
Tabela 11 – Planificação das análises microbiológicas semanais e mensais realizadas ao doce de medronho armazenado em diversas condições, com a respetiva codificação.	63
Tabela 12 – Parâmetros analisados e métodos utilizados para análise de composição nutricional	66
Tabela 13 – Teores de sólidos solúveis (°Brix), pH e peso inicial dos medronhos e teores de sólidos solúveis e peso final do doce nas diversas formulações realizadas.	68
Tabela 14 – Resultados da avaliação da textura do doce de medronho armazenado a temperaturas de 20 °C e 37 °C ao longo de seis meses.....	69
Tabela 15 - Resultados da avaliação da atividade da água (média ± desvio padrão) do doce de medronho a temperaturas de 20 °C e 37 °C ao longo de seis meses.....	70
Tabela 16 - Resultados da análise da cor do doce de medronho a temperaturas de 20 e 37 °C ao longo de seis meses.	71
Tabela 17 – Resultados do teor de sólidos solúveis (°Brix, média ± desvio padrão) do doce de medronho a temperaturas de 20 °C e 37 °C ao longo de seis meses.....	73
Tabela 18 – Resultados das análises microbiológicas, durante cinco semanas dos doces abertos armazenados à temperatura ambiente.	75
Tabela 19 - Resultados das análises microbiológicas, durante cinco semanas, aos doces abertos armazenados no frio.	75
Tabela 20 – Resultados das análises microbiológicas, durante seis meses aos doces fechados armazenados à temperatura ambiente.	76
Tabela 21 - Resultados das análises microbiológicas, durante seis meses, aos doces fechados armazenados à temperatura de 37 °C.	76

Tabela 22 – Cálculos auxiliares para determinação do valor de Friedman	83
Tabela 23 – Valores críticos para a análise de variância por número de ordem de Friedman para o estudo (adaptado de Siegel e Castellan, 1988).....	84
Tabela 24 – Diferenças nas somas de ordem observadas entre as diversas amostras em estudo	85
Tabela 25 – Valores de determinados constituintes do medronho em estudo e de outros autores.	86
Tabela 26 – Resultados das análises nutricionais aos medronhos e ao doce de medronho.....	88
Tabela 27 - Valores nutricionais de doces existentes no mercado	89
Tabela 28 - Material e equipamento utilizado nas análises físico-químicas	114
Tabela 29 – Material, soluções e meios de cultura utilizados nas análises microbiológicas	115
Tabela 30 - Número mínimo (crítico) de respostas corretas para os testes de diferença mais usuais a dois níveis de significância para “n” provadores.....	124

Lista de abreviaturas e símbolos

%	Porcentagem
\bar{x}	Média aritmética
μg	Microgramas
°Brix	Sólidos solúveis totais
°C	Graus Celcius
A	Temperatura ambiente
a*	Vermelho (+)/verde (-)
a _w	Atividade da água
AA	Absorção Atómica
b*	Amarelo (+)/azul (-)
BL	Bolores e Leveduras
BAL	Bactérias Lácticas
BTA	<i>Bacillus thermoacidurans</i>
C	Carbono
C*	Saturação (Croma)
Ca	Cálcio
CG	Cromatografia em Fase Gasosa
CIE	<i>Commission Internationale de l'Eclairage</i> ou Comissão Internacional de Iluminação.
CIELAB	Sistema Lab Color
CRB	Cooke Rose Bengal
dp	Desvio-padrão
ESAC	Escola Superior Agrária de Coimbra
F	Formulações
g	Gramas
H	Hidrogénio
h*	Ângulo Hue
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HR	Humidade Relativa
K	Potássio

k	Número de amostras
kcal	Quilocalorias
kg	Quilograma
kJ	Quilojoule
L	Litro
L*	Luminosidade
Lab e XYZ	Espaços de cores independentes
m	Metros
m ²	Metros quadrados
Mg	Magnésio
mg	Miligramas
mL	Mililitro
mm	Milímetros
MRS	Man, Rogosa e Sharpe
n	Número de provadores
NaOH	Hidróxido de sódio
NP	Norma Portuguesa
O	Oxigénio
P	Fósforo
PCA	Plate Count Agar
pH	Potencial de hidrogénio
s	Segundos
SF	Análises semanais à temperatura de 4 °C
SA	Análises semanais à temperatura de 37 °C
TA	Análises mensais à temperatura de 4 °C
TQ	Análises mensais à temperatura de 37 °C
T	Mensal
TAT	Teor de Anaeróbios Totais
TPA	Texture Profile Analysis
UFC/g	Unidades Formadoras de Colónias por grama
V	Volume

Financiamento

O trabalho desenvolvido foi realizado e financiado pelos projetos que se seguem:

In_Agri/CERNAS/IPC – Rede de Oficinas de Inovação para o sector Agroindustrial é financiado pelo Mais Centro/PORC/Portugal; Código universal de operação: CENTRO-01-AC28-FEDER-004038; nº 3494.

PRODER, medida 4.1: Ref: 43748. O Medronho - Conversão da planta silvestre numa espécie fruteira rentável.

Medida “Passaporte para o Empreendedorismo” - Concessão de Apoios - IAPMEI, Agência para a Competividade e Inovação, I. P. - Programa Operacional Regional do Centro. Projeto nº 219, designado Medro*Jelly4Diet*.

Participação em concursos regionais de empreendedorismo

No âmbito do desenvolvimento do presente trabalho, houve a possibilidade de participação em três concursos de empreendedorismo. De seguida, apresenta-se a descrição de cada um.

1) **Designação do Concurso:** Concurso Arrisca C 2012 – Ideias, Planos de Negócio e Provas de Conceito.

Organização: Universidade de Coimbra, Direção Geral da AAC, IPN_Incubadora, Instituto Politécnico de Coimbra, Associação Comercial e Industrial de Coimbra, Clube de Empresários de Coimbra, Associação Nacional de Jovens Empresários, Coimbra Inovação Parque, Biocant, Instituto Politécnico de Leiria, Incubadora D. Dinis, Parque Tecnológico de Óbidos e NERLEI.

Constituição da Equipa: Cristina Rodrigues (estudante do Mestrado em Engenharia Alimentar, na ESAC), Sara Pereira (estudante na Licenciatura em Biotecnologia Alimentar, na ESAC), Goreti Botelho, Fernanda Ferreira e Sara Proença (docentes na ESAC).

Designação da Equipa: MedroJelly4Diet

Categoria: Ideia de Negócio

Data de candidatura ao Concurso: 15 de outubro de 2012

Data de entrega de Prémios: 14 de janeiro de 2013

Local de entrega de Prémios: Universidade de Coimbra

Prémios atribuídos: Prémio IPC, Prémio Grupo Portucel e Prémio ACIC.

2) **Designação do Concurso:** Concurso Poliempreeunde

Organização: Instituto Politécnico de Coimbra, Coimbra

Constituição da Equipa: Cristina Rodrigues e Carolina Santos (estudantes do Mestrado em Engenharia Alimentar na ESAC), Goreti Botelho, Fernanda Ferreira e Sara Proença (docentes na ESAC).

Designação da Equipa: MedroJelly4Diet

Categoria: Plano de Negócio

Data de candidatura ao Concurso: 24 de março de 2013

Data de entrega de Prémios: setembro de 2013

Local de entrega de Prémios: a definir

Prémio atribuído: 3º Lugar *ex-quo* (1000 euros)

3) **Designação do Concurso:** Concurso de Ideias PIN Inspiring Innovation

Organização: Comunidade Intermunicipal do Pinhal Interior Norte

Constituição da Equipa: Cristina Rodrigues e Carolina Santos (estudantes do Mestrado em Engenharia Alimentar na ESAC), Goreti Botelho, Fernanda Ferreira e Sara Proença (docentes na ESAC).

Designação da Equipa: MedroJelly4Diet

Categoria: Ideia de Negócio

Data de candidatura ao Concurso: 3 de junho de 2013

Data de entrega de Prémios: 15 de junho de 2013

Local de entrega de Prémios: Anfiteatro da Lousã

Prémios atribuídos: Sem atribuição de prémio.



Outras participações

2013 - Membro da equipa que apresentou o projeto intitulado “Medro*Jelly4Diet*”. In: Catálogo de tecnologias FOOD I&DT. Alimentaria & Horexpo Lisboa 2013. Rede INOVAR. p. 34.

13 de fevereiro de 2013 - Apresentação do projeto intitulado “Medro*Jelly4Diet*” numa palestra realizada na Escola Superior Agrária de Coimbra, na “IV Semana dos Cursos”, no dia referente às Ciências Agro Alimentares e Biotecnologia.

12 e 13 de abril de 2013 - Participação no ineo Weekend 2013, realizado no IPN – Incubadora Pedro Nunes, em Coimbra, onde houve oportunidade de trabalhar no projeto intitulado “Medro*Jelly4Diet*”, com apoio de mentores e apresentá-lo a investidores.

15 de novembro de 2013 - Apresentação do projeto de empreendedorismo como membro da equipa “Medro*Jelly4Diet*”, numa palestra sobre empreendedorismo, realizada na Escola Superior Agrária de Coimbra, organizada no âmbito do Mestrado em Gestão Ambiental.

1. Introdução

Este trabalho foi desenvolvido no âmbito do estágio profissionalizante, para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Alimentar, tendo sido realizado na Escola Superior Agrária de Coimbra, Instituto Politécnico de Coimbra.

A produção de alimentos com reduzido teor de açúcares, adequados ao consumo por diabéticos, pessoas com problemas de excesso de peso e que simultaneamente satisfaçam os requisitos sensoriais de um consumidor padrão, constitui uma necessidade de mercado que tem vindo a desenvolver-se nos últimos anos.

A crescente incidência da diabetes, que de acordo com dados de 2011 (PREVADIAB 2010; Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes, 2012), atingia cerca de 12,7% da população adulta portuguesa que, associada a uma oferta nacional escassa e pouco diversificada de produtos alimentares com reduzido teor de açúcares, potencia o interesse na produção deste tipo de alimentos. Acresce que nos últimos anos, paralelamente ao aumento da incidência da diabetes, não só tem aumentado a prevalência de obesidade e de excesso de peso (46% da população adulta portuguesa) (Sérgio *et al.*, 2005), como há uma crescente preocupação com a relação entre dieta, saúde e imagem. Estas tendências vêm estimular o consumo de alimentos saudáveis, nutritivos, funcionais e de valor calórico reduzido, que tenham nutrientes com potencial protetor da saúde dos consumidores. Estes alimentos, além de satisfazerem os requisitos nutricionais e sensoriais básicos, desempenham efeitos fisiológicos benéficos, que diminuem o risco de doenças crónicas, cardiovasculares, cancerígenas ou metabólicas. As indústrias alimentares têm assim o desafio de desenvolver produtos inovadores que respondam a esta nova realidade.

Acresce ainda o cada vez maior interesse manifestado pelos produtores de medronho em encontrar soluções de valor acrescentado, nomeadamente o processamento tecnológico do fruto, para além da já tradicional produção de aguardente. Na zona centro do País, as plantações de medronheiro têm vindo a crescer, existem já cerca de 22 hectares no Estreito de Oleiros, cerca de 30 hectares na Pampilhosa da Serra e cerca de 2400 hectares em Ansião, com uma produção média de 8 toneladas por hectare (Lagarto, 2013). O interesse na valorização de produtos endógenos vem reforçar o interesse deste projeto em produzir um doce de medronho com reduzido teor de açúcares, configurando assim uma resposta a uma necessidade

concreta e urgente, tanto por parte dos produtores de medronho como dos consumidores com diabetes e/ou excesso de peso.

Assim, nasce como objetivo deste trabalho, a necessidade de desenvolver um produto, o doce de medronho, com reduzido teor de açúcares e potenciado pela introdução de um edulcorante extraído da planta *Stevia reubadiana* Bertoni, cujo consumo seja tolerado por pessoas com diabetes e com problemas de excesso de peso/obesidade.

O presente relatório está dividido em sete partes distintas: a) o ponto 1 apresenta uma breve introdução e enquadramento teórico do estudo desenvolvido; b) no ponto 2, apresenta-se a definição e descrição de doces de frutos, onde se descrevem os açúcares presentes nos doces, aborda-se a análise do mercado nacional de doces e, por fim, menciona-se a formulação de doces sem adição de sacarose; c) no ponto 3, explica-se o interesse no desenvolvimento do doce de medronho sem adição de sacarose e justifica-se o interesse potencial do doce de medronho sem adição de sacarose em diversas patologias, como a diabetes e o excesso de peso/obesidade; d) o ponto 4, refere-se à descrição dos ingredientes usados na formulação; e) no ponto 5 descrevem-se os materiais e métodos utilizados na formulação; f) no ponto 6, apresentam-se os resultados alcançados e a sua discussão; e finalmente em g), o ponto 7 refere-se às conclusões do trabalho.

2. Definição e descrição de doces de frutos

O gosto doce desempenha um papel fundamental na aceitação dos alimentos. Segundo o Decreto-Lei nº 230/2003, um doce “é o produto, levado à consistência gelificada apropriada, resultante da mistura de açúcares, polpa e ou polme de um ou mais tipos de frutos e água.” O mesmo Decreto-Lei, refere que a polpa e polme de frutos são a “parte comestível de frutos inteiros, eventualmente descascados ou sem sementes”, onde a polpa pode “apresentar-se cortada em rodela ou esmagada, mas não reduzida a polme” e a polme é “reduzida a polme por peneiração ou um processo similar”. O termo compota, muito empregado, que constava no Decreto-Lei nº 97/84, já não consta na atual legislação portuguesa.

Ao elaborar doces necessita-se de açúcar, pois quer os doces, quer as geleias são preparados através do processo de cozedura dos frutos com adição de açúcar e água. O fabrico de geleias e de doces diferem essencialmente no tipo de ingredientes utilizados relativos à fruta, sumo e ou extrato aquoso de um ou mais tipos de frutos, segundo o Decreto-Lei nº 230/2003.

A conservação dos doces ocorre em função da combinação dos métodos de conservação física (concentração) em associação com o emprego do açúcar, a presença de ácidos e substâncias solúveis presentes na fruta, além do baixo conteúdo aquoso (Gunther, 1981; Luck e Jager, 2000; Oetterer e Sarmiento, 2006). O calor empregado durante a concentração dos doces contribui para aumentar o tempo de conservação uma vez que destrói os microrganismos (Fellows, 2006).

Nas condições mencionadas os agentes responsáveis pela deterioração de doces pertencem aos géneros *Penicillium* e *Aspergillus* que provêm da atmosfera durante as etapas de transferência e enchimento (Gunther, 1981).

2.1. Os açúcares presentes nos doces

Os açúcares, além de fonte energética, atuam como agente de sabor (doçura), de escurecimento (reações de Maillard), controladores da atividade de água, fixadores de aromas e agentes modificadores da textura, pois ajudam na formação do gel e têm um papel muito importante na conservação (Bobbio, Bobbio, 2003a, 2003b; Oetterer e Sarmiento, 2006).

Para além do açúcar normalmente adicionado nos doces (sacarose), o fruto também contém este na sua composição, entre outros como a glucose e a frutose. Estes

açúcares, também designados por hidratos de carbono são de grande importância para os seres vivos. Os hidratos de carbono que não se podem hidrolisar para compostos mais simples designam-se por monossacarídeos e os hidratos de carbono que se podem hidrolisar em duas moléculas de monossacarídeos, designam-se por dissacarídeos (Morrison, 2009). Os que se destacam pela sua importância são a glucose e a frutose, ambos obedecem à fórmula de estrutura geral $C_6H_{12}O_6$ e são as principais fontes de energia dos seres vivos. Estas biomoléculas são ricas em energia, constituindo os principais combustíveis celulares (Lindhorst, 2007).

A glucose, também designada por glicose ou dextrose (monossacarídeo), é o hidrato de carbono mais importante na biologia. As células usam a glucose como fonte de energia e intermediário metabólico (Dufty, 1975). É oxidada nas células como fonte de energia e armazenada no fígado e nos músculos na forma de glicogénio. É importante destacar que a glucose é a única forma de açúcar de que o sistema nervoso central se alimenta e sobrevive. Encontra-se presente no mel, uvas e outros frutos, assim como no sangue (sendo um marcador para a diabetes) (Francis, 2006).

A frutose, também conhecida como açúcar das frutas, é um monossacarídeo, com os carbonos dispostos em anel (como a glucose) e é mais doce que a glucose e a sacarose (Freire *et al.*, 1994). A frutose e a glucose estão fortemente presentes nas uvas, e são a base química do vinho. A ação de leveduras sobre estes açúcares (e nunca sobre sacarose) faz a transformação dos açúcares em etanol e gás carbónico.

A sacarose ($C_{12}H_{22}O_{11}$), também conhecida como o açúcar comum comercial, é um dissacarídeo formado pela união de uma molécula de glucose e uma de frutose através de uma ligação glicosídica, produzida pela planta ao realizar o processo de fotossíntese. Encontra-se em abundância na cana-de-açúcar (*Sacharum officinarum* L.), cerca de 25% e na beterraba (*Beta vulgaris* L.), cerca de 15% (Oliveira, 1989). É, sem dúvida, o dissacarídeo não redutor mais importante devido à quantidade e frequência com que é encontrado na natureza, bem como pela sua importância na alimentação humana. O seu valor calórico corresponde a 4 kcal/g (Bobbio e Bobbio, 2003b, 2003b).

2.2. Análise do mercado nacional de doces, compotas e geleias

Pretendeu-se analisar o consumo de doces sem adição de sacarose no mercado nacional mas não existem dados estatísticos referentes a estes produtos no mercado.

Analizou-se o consumo de doces em Portugal, recolhendo dados sobre as quantidades produzidas, vendidas e valores de vendas de doces, compotas e geleias de 2004 a 2011 com recurso às Estatísticas Agrícolas do INE de 2007, 2009, 2010, 2011 e 2012 (figura 1).

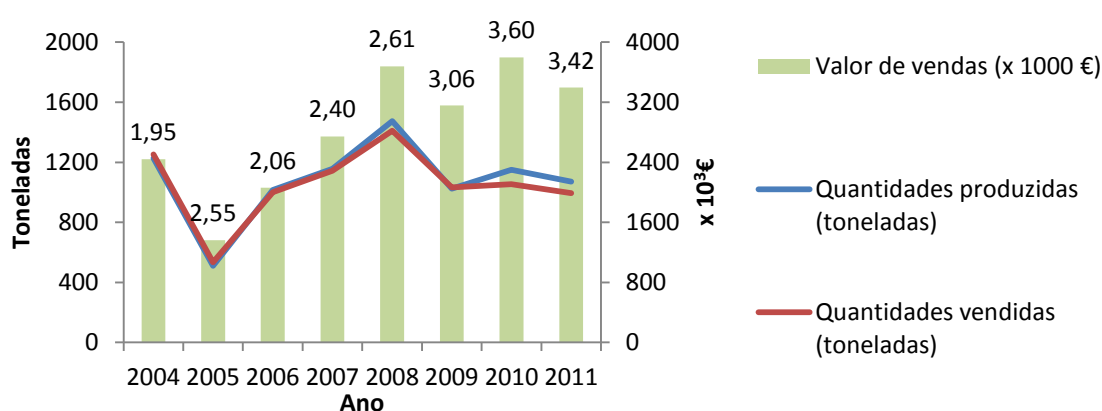


Figura 1 - Quantidades produzidas e vendidas (em toneladas) de doces, compotas e geleias em Portugal e seu valor de vendas (10^3 €) com representação da média aproximada do preço por quilograma entre 2004 a 2011 (INE 2007, 2009, 2010, 2011, 2012).

As quantidades produzidas e vendidas de doces, compotas e geleias em Portugal sofreram algumas oscilações ao longo dos anos. No entanto, nos últimos anos os valores não sofreram grandes alterações, a não ser no ano 2005, em que se produziu cerca de metade dos valores do ano anterior e vendeu-se pouco mais do que se produziu.

Ao longo dos oito anos referidos, os valores de vendas aumentou, mas sofreu algumas alterações ao longo desse tempo. No ano 2005, como se verificou anteriormente, houve um decréscimo no valor de vendas. No ano 2008 e 2010 houve um acréscimo no valor de vendas. Ao estimar um preço médio por quilograma em cada ano, também se pode verificar um aumento do preço ao longo dos anos, onde se destaca um aumento de um euro por quilograma de 2008 a 2010.

Depois de analisar o mercado de doces existente em Portugal, verificou-se quais as empresas que produzem e comercializam doces sem adição de sacarose e/ou com baixo teor de açúcares e analisou-se alguns preços de mercado. Destas empresas, as

que mais se destacam são a “Diese” e a “Casa da Prisca”, na medida em que produzem e comercializam doces de frutos sem adição de sacarose. Refira-se, contudo, que não oferecem doce de medronho, nem utilizam na produção dos seus doces a stevia.

2.3. Formulação de doces sem adição de sacarose

A adoção de hábitos alimentares saudáveis tornou-se uma prioridade para muitos consumidores que cada vez mais restringem a sua dieta em açúcares.

Elaborar um doce sem adição de açúcar torna-se difícil, pois se diminuir a concentração de açúcar ou não adicionar nenhum na produção de doces, não dará um resultado aceitável. Os doces com baixo teor de açúcares são preparados com pectina comercial (Nitzke e Machado, 2004).

Por conter menor quantidade de açúcares, o doce está mais propício ao desenvolvimento microbiológico, nomeadamente de fungos, necessitando de mais tempo de cozedura de modo a eliminar os microrganismos que possam vir a degradar o produto (Morris, 2006). Normalmente as leveduras são destruídas a temperaturas entre 50 a 100 °C. As formas vegetativas das leveduras são eliminadas, em geral, a temperaturas de 50 a 60 °C por 10 a 15 minutos e seus esporos serão destruídos com uma temperatura mínima de 60 °C por 10 a 15 minutos. A maioria dos fungos e seus esporos são destruídos à temperatura mínima de 65 °C por 5 a 10 minutos. Há alguns fungos como algumas espécies de *Penicillium*, em que são necessárias, para a sua destruição, temperaturas de processo acima de 83 °C por até 1000 minutos (Araújo, 1999).

Os doces sem adição de açúcar normalmente contêm edulcorantes, os quais deverão ser enunciados no rótulo e referir se têm alguma restrição para determinados consumidores, como é o caso do aspartame e do acesulfame-K (Reg. nº 1333/2008).

3. Interesse no desenvolvimento de doce de medronho sem adição de sacarose

Atualmente, a procura por produtos com baixo teor de açúcares e produtos dietéticos tem vindo a aumentar, o que faz com que a indústria alimentar invista seriamente em pesquisas orientadas para o desenvolvimento de novos produtos. Essas pesquisas devem ser realizadas com o intuito de contribuir para uma melhor qualidade de vida dos consumidores incentivando para a diminuição do consumo de açúcar, que é causador de efeitos adversos como diabetes, doenças coronárias, obesidade entre outras (Mendonça *et al.*, 2005).

O interesse no desenvolvimento do doce de medronho reside no facto de ser inovador e diferenciador, dado que combina a sua atividade antioxidante dos medronhos com o reduzido teor de açúcares potenciado pela introdução de um edulcorante natural extraído da planta *Stevia reubadiana* Bertoni, também este com características benéficas para a saúde. O doce de medronho foi desenvolvido a pensar nas necessidades de alguns consumidores com diabetes e excesso de peso, e pretende-se que satisfaça os requisitos nutricionais e sensoriais básicos, possuindo efeitos fisiológicos benéficos, dada a grande quantidade de antioxidantes (como polifenóis e flavonóides) presentes no medronho aliada ao uso da stevia. Poderão verificar-se repercussões benéficas em termos do metabolismo celular, levando à diminuição do risco de doenças crónicas, ocasionadas por aumento do stresse oxidativo, como as doenças de origem inflamatória e as doenças cardiovasculares e cancerígenas.

A procura por antioxidantes provenientes de fontes naturais tem recebido especial atenção e vários trabalhos têm sido desenvolvidos no sentido de identificar compostos com capacidade antioxidante (não enzimática) que possam prevenir o stresse oxidativo. Tem sido demonstrado por vários investigadores que diversas plantas possuem na sua constituição antioxidantes naturais, como é o caso dos polifenóis e flavonóides, que foram identificados como bloqueadores de radicais livres e oxigénio ativo. Neste contexto, diversos estudos têm vindo a concluir que o medronho é uma fonte de antioxidantes naturais atendendo ao seu elevado teor de fenóis (Alarcão-e-Silva *et al.*, 2001; Ayaz *et al.*, 2000; Pallauf *et al.*, 2008; Ziyat *et al.*, 2002). São reconhecidos os seus efeitos benéficos na saúde humana, devido principalmente às suas propriedades antissépticas, diuréticas, ajuda na prevenção de doenças gastrointestinais, doenças cardiovasculares, doenças renais, problemas urológicos, dermatológicos e redução da hipertensão arterial (El Haouari *et al.*, 2007; González-Tejero, 1990; Mekhfi

et al., 2006; Ziyat *et al.*, 2002). Estas propriedades derivam sobretudo da composição química do fruto, rico em compostos com propriedades antioxidantes, vitaminas C e E, carotenóides e ácidos orgânicos (Alarcão-e-Silva *et al.*, 2001; Ayaz *et al.*, 2000; Baytop, 1984; 2006; Celikel *et al.*, 2008; Fiorentino *et al.*, 2007; Fortalezas *et al.*, 2010; Karikas e Giannitsaros, 1990; Males *et al.*, 2006; Oliveira *et al.*, 2009; Oliveira *et al.*, 2010; Özcan e HacIseferogullarI 2007; Pabuçcuoğlu *et al.*, 2003; Pallauf *et al.*, 2008; Pawlowska *et al.*, 2006; Tavares *et al.*, 2010; Yavaşer *et al.*, 2010).

A stevia (edulcorante natural extraído da planta *Stevia reubadiana*), por sua vez, tem um poder edulcorante 300 vezes superior ao da sacarose e não é metabolizado pelo organismo, pelo que não fornece calorias, tornando-se por isso adequado para diabéticos, pessoas com problemas de excesso de peso e de hipertensão. Acresce ainda que a stevia possui compostos com atividade benéfica para indivíduos com diabetes, retardando o aparecimento das patologias associadas, tais como a insuficiência renal e a retinopatia, que conduzem a uma perda de qualidade de vida considerável. De acordo com diversos estudos científicos, o consumo regular de stevia reduz o teor de açúcar e colesterol no sangue, melhora a regeneração celular, a coagulação do sangue, suprime o crescimento neoplástico e fortalece os vasos sanguíneos (Atteh *et al.*, 2008; Barriocanal *et al.*, 2008; Braz de Oliveira *et al.*, 2011a; Chatsudthipong e Muanprasat, 2009; Chen *et al.*, 2006; Curi *et al.*, 1986; Fujita e Edahiro, 1979; Ghanta *et al.*, 2007; Jeppesen *et al.*, 2000; Jeppesen *et al.*, 2002; Jeppesen *et al.*, 2003; Kinghorn *et al.*, 1998; Maki *et al.*, 2008; Pol *et al.*, 2007; Soejarto *et al.*, 1982; Suanarunsawat e Chaiyabutr, 1997; Toskulkao *et al.*, 1995; Wingard *et al.*, 1980). Exibe também propriedades diuréticas, previne o aparecimento de úlceras no trato gastrointestinal, propriedades anti-inflamatórias e é usada no tratamento de cancro e doenças cardiovasculares (Chatsudthipong e Muanprasat, 2009; Chen *et al.*, 2006; Fujita e Edahiro, 1979; Ghanta *et al.*, 2007; Jayaraman *et al.*, 2008; Jeppesen *et al.*, 2000; Jeppesen *et al.*, 2002, Jeppesen *et al.*, 2003; Kinghorn *et al.*, 1998; Kochikyan *et al.*, 2006; Pol *et al.*, 2007 Sehar *et al.*, 2008).

Aliando as propriedades benéficas do medronho e da stevia, decidiu-se desenvolver um doce para consumidores diabéticos ou com problemas de excesso de peso, ajudando também os produtores de medronho a desenvolver novos produtos de valor acrescentado.

3.1. Justificação do interesse potencial do doce de medronho sem adição de sacarose em diversas patologias

A substituição total da sacarose por edulcorantes na tecnologia dos alimentos tem como objetivo reduzir ou prevenir o risco de doenças associadas ao consumo de sacarose, como por exemplo, obesidade, diabetes, insuficiência renal, doenças cardiovasculares, litíase biliar e cataratas (Campos e Cândido, 1994).

O medronho e a stevia têm constituintes com propriedades benéficas para a saúde, incluído o seu poder antioxidante, adequados para pessoas com diabetes e com problemas de obesidade como referenciado no ponto 3.

3.1.1. Diabetes

A *Diabetes mellitus* é uma doença caracterizada pela produção insuficiente de insulina ou porque o organismo não consegue utilizá-la corretamente. Desta situação resulta uma perturbação no metabolismo dos hidratos de carbono, das proteínas e dos lípidos que leva ao aparecimento de hiperglicemia (aumento dos níveis de concentração de glucose no plasma sanguíneo) (Patrão, 2011). O excesso de açúcar no sangue dá origem a glicosúria e poliúria. Há dois tipos de diabetes mais frequentes: a diabetes insulínica ou tipo 1 e a diabetes não insulínica ou do tipo 2. Os diabéticos têm tendência a complicações vasculares, afetando a retina, rim, coração e sistema nervoso (Finer, 1989; Silliman e Coulston, 1991).

A diabetes é uma das primeiras causas de morbilidade e mortalidade no mundo. A rápida evolução epidemiológica global registada nos últimos anos - aumento da prevalência e da incidência - leva a que a diabetes seja considerada uma das pandemias do século XXI. De acordo com os dados do International Diabetes Federation (IDF Diabetes Atlas, 2011), existiu uma prevalência global de 8,3% e estima-se para 2030 um valor de 9,9%. No entanto, de acordo com o Estudo de Prevalência da Diabetes em Portugal (PREVADIAB 2010; Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes 2012), a prevalência total ajustada à população em 2011 foi de 12,7%, ou seja, superior à estimativa IDF para 2030 e uma das mais elevadas da UE. Cerca de 1/3 da população Portuguesa (20-79 anos) ou tem diabetes ou uma maior predisposição para o desenvolvimento desta doença (Pré-Diabetes): 7,2% prevalência diabetes diagnosticada e 5,5% não diagnosticada.

Constata-se assim que esta patologia está a evoluir de forma inesperada, atingindo um número não previsível de pessoas. Além disso, trata-se duma doença crónica com elevados custos sociais e económicos. Viver com uma doença como a diabetes atinge todos os aspetos do quotidiano devido às exigências que impõe no estilo de vida dos indivíduos (Grilo *et al.*, 2008; Patrão, 2011).

O Ministério da Saúde adotou medidas específicas, inseridas na atualidade do pensamento europeu e na revolução da política de saúde da OMS, através da criação do Programa Nacional de Prevenção e Controlo da Diabetes. Esse programa propõe medidas aos vários níveis de prevenção (primária, secundária e terciária) e sugere a necessidade de formação dirigida às pessoas idosas com diabetes (DGS, 2008).

3.1.2. Obesidade

A obesidade é um distúrbio da composição corporal definido pelo excesso absoluto ou relativo de gordura corporal, resultante de um estado de desequilíbrio entre as calorias ingeridas e as calorias gastas, que pode ter um efeito adverso sobre a saúde e levar a expectativa de vida reduzida e aumento dos problemas de saúde (Anthony, 2008; Bessesen, 2008; Francis, 2006; Nammi *et al.*, 2004; Sérgio *et al.*, 2005; Uwaifo, 2011; WHO, 2011).

A prevalência da obesidade tem aumentado dramaticamente nas últimas décadas tanto nos países industrializados (Kaila e Raman, 2008; Sérgio *et al.*, 2005; Uwaifo, 2011) como nos países em desenvolvimento (Francis, 2006; Uwaifo, 2011; WHO, 2011) tornando-se um dos mais sérios problemas de saúde pública (Bessesen, 2008; Frota, 2007; Nammi *et al.*, 2004; Uwaifo, 2011;), superando mesmo outras questões clássicas como a desnutrição e as doenças infecciosas devido á sua prevalência, custos e efeitos na saúde (Frota, 2007; Sérgio *et al.*, 2005). Atualmente 65% da população mundial vive em países onde o excesso de peso e a obesidade mata mais pessoas do que o baixo peso (WHO, 2011).

A obesidade mais do que duplicou em todo mundo desde 1980. Segundo a OMS, em 2008, cerca de 1,5 biliões de adultos (idade superior a 20 anos), estavam com excesso de peso. Destes, mais de 200 milhões de homens e quase 300 milhões de mulheres eram obesos. Globalmente, uma em cada três pessoas da população mundial tem excesso de peso e mais de um em cada dez adultos é obeso. A OMS reconhece que, neste século, a obesidade tem uma prevalência igual ou superior à da desnutrição e das

doenças infecciosas (WHO, 2011). Em Portugal, o excesso de peso e a obesidade na população adulta tem uma prevalência média de cerca de 34% nos homens e de 12% nas mulheres, sendo de realçar a grande percentagem de homens com excesso de peso e obesidade em relação às mulheres (Sérgio *et al.*, 2005).

A obesidade, que já foi outrora vista como o resultado da falta de força de vontade ou da escolha de um estilo de vida baseado em comer demais e não realizar exercício é agora considerada mais adequadamente pelo mundo moderno como uma doença crónica de etiologia principalmente genética modificada pelo meio ambiente que requer estratégias eficazes para a sua gestão (Nammi *et al.*, 2004).

O aumento da obesidade é multifatorial (Kaila e Raman, 2008; Nammi *et al.*, 2004; Uwaifo, 2011) envolvendo uma interação complexa entre fatores genéticos, metabólicos, hormonais, ambientais, comportamentais e culturais (Frota, 2007; Kaila e Raman, 2008; Nammi *et al.*, 2004; WHO, 2011). Embora haja, certamente, uma predisposição genética para a obesidade, vários fatores ambientais estão também implicados (Young e Nestle, 2002) incluindo: o excesso de comida durante a refeição, a composição dos macronutrientes da dieta e o sedentarismo devido às conveniências dos tempos modernos (Kaila e Raman, 2008; Nammi *et al.*, 2004).

O excesso de peso (definido como um índice de massa corporal (IMC) de 25 kg/m² ou mais (Kaila e Raman, 2008; WHO, 2011) e a obesidade (IMC maior que 30 kg/m² (Kaila e Raman, 2008; Sérgio *et al.*, 2005; WHO, 2011) são a 5ª principal causa de morte a nível mundial (WHO, 2011) e, indiscutivelmente, a maior causa de mortalidade evitável a seguir ao consumo tabágico (Sérgio *et al.*, 2005; Uwaifo, 2011). Estima-se que pelo menos 2,8 milhões de adultos morrem a cada ano como resultado de terem excesso de peso ou serem obesos (WHO, 2011). Além disso, 44% da carga de diabetes, 23% da carga de doença isquémica do coração e entre 7% a 41% da carga de certos cancros são atribuídos ao excesso de peso e à obesidade (WHO, 2011).

A obesidade está associada com um risco aumentado de várias doenças: doença arterial coronária, doença cerebrovascular, hipertensão arterial, dislipidémia, diabetes tipo 2, litíase biliar, embolia pulmonar, apneia de sono, distúrbios ginecológicos, esteatose hepática, osteoartrite, doenças psiquiátricas e certos tipos de cancros (mama, próstata, endométrio e cólon) (Bessesen, 2008; Kaila e Raman, 2008; Nammi *et al.*, 2004; WHO, 2006).

Os seus custos económicos representam cerca de 2 a 7% dos custos totais de saúde e estima-se que em Portugal, os custos diretos (que compreendem às despesas

com a prevenção, diagnóstico, tratamento, reabilitação, investigação, formação e investimento) da obesidade absorvam 3,5% destas despesas (Esteves, 2011).

A base de qualquer estratégia de perda de peso são os comportamentos dietéticos e de atividade física do indivíduo porque, como a obesidade é fundamentalmente uma doença de desequilíbrio energético, todos os pacientes devem aprender como e quando a energia é adquirida (dieta), como e quando a energia é despendida (atividade física) e como incorporar esta informação na sua vida diária (terapia comportamental) (Esteves, 2011).

4. Descrição dos principais ingredientes usados na formulação do doce de medronho sem adição de sacarose

A formulação do doce obtida no final do estudo tem no seu conteúdo os seguintes constituintes: medronhos, água, sumo concentrado de uva, citrato de cálcio, ácido cítrico, stevia, alginato de sódio, goma de alfarroba, pectina e sorbato de potássio.

O medronheiro e o seu fruto, a água, o sumo concentrado de uva branca e os aditivos alimentares, dentro dos quais o regulador de acidez, gelificantes, conservante e edulcorante, são apresentados de seguida com as suas respetivas características.

4.1. Descrição do medronho (*Arbutus unedo* L.)

Os medronhos (*Arbutus unedo* L.) são frutos normalmente esféricos, de dimensões variáveis, entre um a quatro centímetros de diâmetro, apresentando cor vermelha/laranja, característica do estado final de maturação (figura 2a e 2b). São carnudos, com saliências piramidais, contêm sementes e sabor agradável quando maduros (Gilman e Watson, 1993; Soufleros *et al.*, 2005; Galego, 1995).



a)



b)

Figura 2 – a) Medronheiro com flor e fruto; b) Fruto do medronheiro, o medronho

Embora raramente consumido em fresco é muitas vezes transformado, como doces, geleias, vinagre e produtos fermentados, como licores e aguardente (Alarcão-e-Silva *et al.*, 2001; Ayaz *et al.*, 2000; Galego, 1995; Pallauf *et al.*, 2008; Pawlowska *et al.*, 2006; Ruiz-Rodríguez *et al.*, 2011; Simonetti *et al.*, 2008; Soufleros *et al.*, 2005). A principal aplicação destes frutos é a produção de uma bebida destilada conhecida, em Portugal, como "aguardente de medronho" (Cavaco *et al.*, 2007), na Grécia como "Koumaro" (Soufleros *et al.*, 2005) e em Itália como "Corbezzolo" (Versini *et al.*,

1995). Esta bebida é um produto tradicional feito em unidades de pequena escala ou industrial, durante o período de setembro a janeiro e, a sua produção faz com que o medronheiro (*A. unedo*) seja um arbusto muito interessante por razões sociais e económicas (Alarcão-e-Silva *et al.*, 2001; González *et al.*, 2011; Soufleros *et al.*, 2005). O medronho, é constituído na sua maioria por água, açúcares, fibras e proteínas, como indicado na tabela 1 (Barros *et al.*, 2010; Özcan e Haciseferoğullari, 2007; Ruiz-Rodriguez *et al.*, 2011).

Tabela 1 - Características físico-químicas do medronho

Özcan e Haciseferoğulları 2007 (Turquia)			Barros <i>et al.</i> , 2010 (Trás-os-Montes)		Ruiz-Rodriguez <i>et al.</i> , 2011 (Espanha)	
Propriedades			Valores e unidades			
Valor energético	327,00 ± 13,00	kcal/g	399,99 ± 1,17	kcal/100g peso seco	101,00	kcal/100g
Humidade	53,72 ± 2,10	%	59,70 ± 2,67	g/100g peso fresco	56,48	g/100g
Proteínas	3,36 ± 0,12	%	3,09 ± 0,08	g/100g peso seco	0,89	g/100g
Gorduras	2,10 ± 0,10	%	1,37 ± 0,40	g/100g peso seco	0,61	g/100g
Fibras	6,40 ± 1,10	%	-		16,21	g/100g
Hidratos de carbono	-		93,83 ± 0,41	g/100g peso seco	23,55	g/100g
Cinzas	2,82 ± 0,12	%	1,71 ± 0,09	g/100g peso seco	0,86	g/100g
Óleos essenciais	0,02 ± 0,00	%	-		-	
Acidez	0,40 ± 0,10	%	-		-	
pH	4,60 ± 0,10		-		-	

Fonte: Barros *et al.*, 2010; Özcan e Haciseferoğullari, 2007; Ruiz-Rodriguez *et al.*, 2011.

Considerado uma boa fonte de proteínas, fibras e açúcares, o medronho é um fruto muito rico em minerais, particularmente de potássio (K), de cálcio (Ca) e de fósforo (P) como se pode verificar na tabela 2 (Gomes, 2006; Özcan e Haciseferoğullari, 2007; Ruiz-Rodriguez *et al.*, 2011).

Tabela 2 - Composição mineral do medronho

	Özcan e Haciseferoğullari, 2007 (mg/kg)	Gomes, 2006 (mg/100g)	Ruiz-Rodriguez <i>et al.</i> , 2011 (mg/100g)
Propriedades	Valores		
Ca	4959,02 ± 150,00	166,50	66,54
Cu	1,65 ± 0,41	-	0,12
Fe	12,15 ± 1,11	-	0,88
K	14909,08 ± 1687,00	124,10	177,30
Mg	1315,57 ± 129,19	32,70	19,62
Mn	4,44 ± 0,55	-	0,08
Na	701,26 ± 80,00	103,20	7,52
P	3668,56 ± 339,69	-	-
Zn	8,09 ± 0,96	-	0,47

Fonte: Gomes, 2006; Özcan e Haciseferoğullari, 2007; Ruiz-Rodriguez *et al.*, 2011.

Os frutos são uma boa fonte dietética de antioxidantes, incluindo compostos fenólicos (por exemplo, antocianinas e outros flavonoides, derivados de ácido gálico e taninos), vitamina C ou ácido ascórbico, vitamina E e carotenóides (Alarcão-e-Silva *et al.*, 2001; Ayaz *et al.*, 2000; Baytop, 1984; Celikel *et al.*, 2008; Fiorentino *et al.*, 2007; Fortalezas *et al.*, 2010; Karikas e Giannitsaros, 1990; Males *et al.*, 2006; Oliveira *et al.*, 2010; Özcan e Haciseferoğullari 2007; Pabuçcuoğlu *et al.*, 2003; Pallauf *et al.*, 2008; Pawlowska *et al.*, 2006; Tavares *et al.*, 2010; Yavaşer *et al.*, 2010). São também ricos em ácidos gordos polinsaturados ómega-3 (Oliveira *et al.*, 2011b). Os frutos mostraram ter atividade antimicrobiana (Kivçak *et al.*, 2001).

A espécie *Arbutus unedo* L. tem na sua composição uma quantidade importante de compostos fenólicos e devido à sua comprovada atividade antioxidante têm a capacidade de bloquear a atividade dos radicais livres bem como inibir a formação do radical superóxido, um dos mais importantes no processo oxidativo das células. Este facto é relevante dada à evidência de que estes radicais estão envolvidos na génese de várias doenças, tais como cancro, doenças coronárias e doenças degenerativas. É um remédio natural para doenças gastrointestinais, problemas dermatológicos e infeções urinárias (Pabuc *et al.*, 2003; Tucakov, 1997;). Além da capacidade antioxidante e possíveis efeitos protetores sobre a saúde humana, os fenóis têm também sido

correlacionados com propriedades anti-inflamatórias e propriedades antibacterianas (Oliveira *et al.*, 2011a).

Muitos dos problemas de saúde nas sociedades industrializadas modernas são doenças cardiovasculares, cancro, diabetes, doenças neurológicas e aterosclerose. É possível prevenir e, eventualmente, diminuir a ocorrência de tais problemas de saúde, incluindo na dieta alimentos que contêm substâncias naturais com atividade antioxidante, fornecendo desta forma substâncias químicas capazes de eliminar os radicais livres e evitando assim o stresse oxidativo celular (Tucakov, 1997).

Estes resultados, juntamente com a sua elevada produção podem contribuir para reforçar o seu consumo. O medronho pode ser considerado como um produto interessante e uma boa fonte de compostos bioativos para suplementos dietéticos ou alimentos funcionais (Ruiz-Rodriguez, 2011). Na verdade, o interesse nos benefícios de saúde da incorporação de frutos ou seus extratos de frutas em iogurtes, recheios de pastelaria, cereais ou produtos de carne tem sido recentemente descrito (Alarcão-e-Silva *et al.*, 2001; Ganhao *et al.*, 2010).

De acordo com os dados apresentados na tabela 3, o medronheiro, no seu todo, poderá ser utilizado como uma fonte de compostos de promoção da saúde, ou na indústria de alimentos, e também nos setores farmacêutico e químico, contribuindo para uma maior exploração económica deste arbusto.

Tabela 3- Propriedades terapêuticas do medronheiro

Parte da Planta	Utilização Medicinal	Referências
Fruto	Doenças gastrointestinais	Bnouham <i>et al.</i> , 2010 Oliveira <i>et al.</i> , 2011a El Haouari <i>et al.</i> , 2007
	Problemas urológicos	Özcan e Haciseferoğullari, 2007
	Problemas dermatológicos	Afkir <i>et al.</i> , 2008
	Hipertensão arterial	El-Hilaly <i>et al.</i> , 2003 Mekhfî <i>et al.</i> , 2006
	Doenças renais	González-Tejero, 1990
	Problemas cardiovasculares	Mariotto <i>et al.</i> , 2008 Pallauf <i>et al.</i> , 2008
	Anti-inflamatório	Leonti <i>et al.</i> , 2009
	Diurético	Cornara <i>et al.</i> , 2009 Tucakov, 1997
		Ziyyat e Boussairi, 1998
		Ziyyat <i>et al.</i> , 2002
Folhas	Doenças gastrointestinais	Afkir <i>et al.</i> , 2008
	Problemas urológicos	Mariotto <i>et al.</i> , 2008
	Problemas dermatológicos	Leonti <i>et al.</i> , 2009
	Problemas cardiovasculares	Jouad <i>et al.</i> , 2009
	Doenças renais	Cornara <i>et al.</i> , 2009 Bnouham <i>et al.</i> , 2010
	Hipertensão arterial	Oliveira <i>et al.</i> , 2011a González-Tejero, 1990
	Diabetes	Sakar <i>et al.</i> , 1991
	Diurético	Karikas <i>et al.</i> , 1986
	Antidiarreico	Kıvçak <i>et al.</i> , 2001
	Anti-inflamatório	El-Hilaly <i>et al.</i> , 2003 Mekhfî <i>et al.</i> , 2006
Raízes	Doenças gastrointestinais	El Haouari <i>et al.</i> , 2007
	Problemas urológicos	Ziyyat e Boussairi, 1998
	Problemas dermatológicos	Ziyyat <i>et al.</i> , 2002
	Problemas cardiovasculares	Ziyyat <i>et al.</i> , 1997
	Hipertensão arterial	Tucakov, 1997
	Diabetes	
	Diurético	
	Antidiarreico	
Casca	Doenças gastrointestinais	Jouad <i>et al.</i> , 2009
	Problemas urológicos	Leonti <i>et al.</i> , 2009
	Problemas dermatológicos	Novais <i>et al.</i> , 2004
	Problemas cardiovasculares	Ziyyat <i>et al.</i> , 1997

4.2. Água

No processo de produção de doces é necessária a adição de água como já foi referido anteriormente.

Os medronhos têm na sua constituição cerca de 50 a 60% de humidade, a qual vai evaporar durante o processo de cozedura.

A água a adicionar na produção de qualquer produto alimentício tem de ser adequada ao consumo humano. O Decreto-Lei nº 306/2007, estabelece o regime da qualidade da água destinada ao consumo humano, tendo por objetivo proteger a saúde humana dos efeitos nocivos resultantes da eventual contaminação da água e assegurar a disponibilização tendencialmente universal de água salubre, limpa e desejavelmente equilibrada na sua composição”. O mesmo Decreto-Lei refere que a “Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE) define e comunica à autoridade competente para a qualidade da água para consumo humano (IRAR - Instituto Regulador de Águas e Resíduos) e à Direcção-Geral da Saúde a lista das utilizações nas indústrias alimentares, em que a salubridade do produto final não é afetada pela qualidade da água utilizada.”

4.3. Sumo concentrado de uva branca

O sumo ou mosto concentrado de uva é sumo da uva não fermentado, proveniente de uvas frescas e é o produto da desidratação parcial do mosto (Decreto-Lei nº 35846/46).

A composição de sumo de uva é semelhante à das uvas inteiras, exceto a fibra e os óleos, que estão principalmente presente na semente, a qual é removida. Os açúcares, ácidos, ésteres de álcoois voláteis e aldeídos são os principais constituintes de sabor. A glucose e a frutose são os principais açúcares presentes no sumo de uva. As alterações que ocorrem nas uvas durante o crescimento e maturação determinam a qualidade do sumo. Os principais ácidos do sumo de uva são o ácido tartárico, málico e cítrico, mas existem pequenas quantidades de outros ácidos. A concentração de sumo de uva é uma operação vital da indústria de processamento de sumos e este processo ocorre por evaporação ou por congelação (Bates *et al.*, 2001).

O sumo de uva concentrado (entre 65 a 70 °Brix) minimiza os custos de transporte e armazenamento. Este concentrado é diluído para uso em sumo de uva e é usado para adoçar doces, geleias, iogurtes, sobremesas de frutas congeladas, cereais,

biscoitos e outros produtos de panificação. A utilização do sumo concentrado de uva branca é muito utilizado pois não altera a cor do produto final. Muitos consumidores utilizam sumo concentrado de frutas como um substituto saudável do açúcar de mesa (Bates *et al.*, 2001).

4.4. Aditivos alimentares

Durante os processos de transformação há muitas vezes a necessidade de adicionar aos géneros alimentícios, substâncias com ou sem valor nutritivo, que ajudam a conservar ou melhorar as suas características, aos quais se dá o nome de aditivos alimentares.

A utilização de aditivos nos alimentos é regulada por legislação própria, quer em Portugal, quer nos restantes países da União Europeia. Para que possa ser utilizado no processamento de alimentos, qualquer aditivo tem que fazer parte das listas positivas de aditivos alimentares. Estas listas incluem todos os aditivos alimentares autorizados, são específicas para grupo de alimentos e indicam os teores máximos permitidos para cada aditivo (Reg. (CE) n° 1129/2011).

Segundo o Regulamento (CE) n° 1333/2008, refere que um aditivo alimentar é “qualquer substância não consumida habitualmente como género alimentício em si mesma e habitualmente não utilizada como ingrediente característico dos géneros alimentícios, com ou sem valor nutritivo, e cuja adição intencional aos géneros alimentícios, com um objetivo tecnológico na fase de fabrico, transformação, preparação, tratamento, embalagem, transporte ou armazenagem, tenha por efeito, ou possa legitimamente considerar-se como tendo por efeito, que ela própria ou os seus derivados se tornem direta ou indiretamente um componente desses géneros alimentícios.

No Decreto-Lei n.º 192/89, indica que “a utilização dos aditivos alimentares nos géneros alimentícios deve obedecer aos seguintes princípios:

- a) Não acarretar perigo para a saúde do consumidor, na dose ministrada;
- b) Não provocar diminuição do valor nutritivo dos géneros alimentícios;
- c) Não dissimular os efeitos da utilização de matérias-primas defeituosas ou de técnicas incorretas de preparação, fabrico, tratamento, acondicionamento, transporte ou armazenagem;

d) Não induzir o consumidor em erro quanto à natureza, genuinidade ou qualidade do produto;

e) Não ser possível obter o efeito desejado por outros métodos inócuos, económica e tecnologicamente exequíveis.”

Os aditivos alimentares são classificados como corantes; conservantes; antioxidantes e reguladores de acidez; emulsionantes, estabilizadores, espessantes e gelificantes; edulcorantes; entre outros (tabela 4).

Tabela 4 – Classificação de alguns aditivos alimentares (Reg. nº 1333/2008)

E 100 – 199	Corantes - Intensificam ou conferem cor aos alimentos.
E 200 – 299	Conservantes - Substâncias que prolongam a durabilidade dos alimentos, protegendo-os contra a deterioração provocada por microrganismos (ex. ácido sórbico - E200, sorbato de potássio - E202).
E 300 – 399	Antioxidantes e reguladores de acidez - Substâncias que prolongam a durabilidade dos alimentos protegendo-os contra a oxidação, tal como a rancidez e as alterações de cor (ex. ácido ascórbico/Vitamina C – E300 e ác. Cítrico – E330).
E 400 – E499	Emulsionantes, estabilizadores, espessantes e gelificantes - Servem para dar estabilidade, consistência e boa apresentação (ex. pectina – E440 , goma de alfarroba – E410 e alginato de sódio – E401).
E 500 - 599	Reguladores de acidez - Alteram ou controlam o pH dos alimentos.
E 950 - 969	Edulcorantes - Substâncias utilizadas para conferir um sabor doce aos alimentos (ex. sorbitol – E420, acesulfame-K – E950, aspartame – E951, glicosídeos de esteviol – E960).

Perante as categorias enunciadas de aditivos alimentares, são abordados de seguida os aditivos utilizados ao longo do processo da formulação do doce de medronho, referindo as suas principais características.

4.4.1. Antioxidantes e reguladores de acidez

Os reguladores de acidez são substâncias que auxiliam no controlo da acidez dos alimentos. Segundo o Regulamento nº 1333/2008, define reguladores de acidez como sendo “substâncias que alteram ou controlam a acidez ou a alcalinidade dos géneros alimentícios”. Os antioxidantes, são “substâncias que prolongam o prazo de conservação dos géneros alimentícios, protegendo-os contra a deterioração causada pela oxidação, tal como a rancidez das gorduras e as alterações de cor”.

O Regulamento nº 1129/2011, indica a autorização do uso de ácido ascórbico ou Vitamina C (E300), de ácido cítrico (E330), de ácido tartárico e ácido láctico (E270), bem como de seus sais, no processo de elaboração de doces.

4.4.1.1. Ácido cítrico

O ácido cítrico (E330), representado pela forma empírica $C_6H_8O_7$, é um ácido orgânico encontrado nos citrinos, que reforça a atividade de muitos antioxidantes, mas não é um antioxidante propriamente dito. Este é usado principalmente como regulador de acidez e como um componente do aroma. Além disso, aumenta a consistência dos doces e das geleias e reduz o escurecimento das frutas (a atividade enzimática) e produtos feitos à base de fruta (Araújo, 1999).

É um pó cristalino que é utilizado como regulador de acidez em alimentos até que se obtenha o pH final de 4,5 ou menor para produtos processados termicamente, prevenindo o crescimento e desenvolvimento da bactéria *Clostridium botulinum*. É muito utilizado na indústria de doces como flavorizante, proporcionando a sensação ácida de frutas, intensifica o sabor dos flavorizantes naturais das frutas, inibe o efeito catalisador dos metais presentes em praticamente todos os alimentos e o escurecimento de frutas durante o processamento (Araújo, 1999). De acordo com Araújo (1999), o pH ácido facilita a destruição de microrganismos pelo calor, permitindo que se utilize menos tempo de processamento térmico, minimizando os efeitos negativos da aplicação de temperatura sobre a qualidade do produto. Outra função do ácido cítrico é inibir o crescimento ou desenvolvimento de microrganismos em alimentos, prolongando a vida útil e garantindo a segurança para consumo (Araújo, 1999).

A adição de ácido cítrico nos doces tem por objetivo baixar o pH para se obter uma gelificação adequada e realçar o aroma natural da fruta. Verificou-se que a concentração hidrogeniônica tem importância na gelificação em doces de alto metoxilo

e o pH ideal varia em função do teor de sólidos solúveis (Jackix, 1988). A faixa ideal de pH, para obter boa geleificação, consiste entre 3,0 a 3,2 (Torrezan, 1998). Segundo Soler (1991), o ácido cítrico é o mais utilizado pelo seu sabor agradável (Poiani *et al.*, 2008; Soler, 1991).

O pH é o fator mais importante a ser considerado quando se deseja processar frutos, pois, em função do seu valor, são sujeitos a tratamentos térmicos mais ou menos severos. Os microrganismos de importância para a saúde pública, isto é, aquelas bactérias que causam infecção ou intoxicação alimentar não se desenvolvem em alimentos com pH 4,5 ou inferior. Isto é, abaixo deste pH o alimento é considerado livre de deterioração por bactérias produtoras de toxinas. Entretanto, há um número de microrganismos que consegue desenvolver-se em alimentos com valores de pH abaixo de 4,5 e podem deteriorá-lo. Certas bactérias ácido-tolerantes, como as bactérias do ácido láctico e as bactérias acéticas são capazes de se desenvolver em alimentos com pH's compreendidos entre 3,5 e 4,5. A maioria das leveduras e fungos consegue-se desenvolver em níveis de pH inferior a 3,0 (Paschoalino, 1989).

4.4.1.2. Citrato de cálcio

O citrato de cálcio (E333) é um sal originado do ácido cítrico de fórmula molecular $\text{Ca}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2$. É utilizado na preservação e condimentação dos alimentos e como amaciador de água, por possuir a propriedade de "quebrar" iões metálicos. É também encontrado em alguns suplementos alimentares.

O citrato de cálcio é o sal de cálcio de ácido cítrico e é normalmente usado como um aditivo de alimentos, especialmente como conservante, mas também para melhorar o sabor.

O sal de cálcio também designado como o citrato tricálcico é produzido pela neutralização completa do ácido cítrico com uma fonte de cálcio de elevada pureza, tal como hidróxido de cálcio ou carbonato de cálcio.

Com o seu elevado teor de cálcio de 21%, o citrato de tricálcio é o sal de cálcio mais económico entre os sais de cálcio orgânicos vulgarmente utilizados (Food Ingredients, 2011; Lidon, 2007)

4.4.2. Emulsionantes, estabilizadores, espessantes e gelificantes

Os emulsionantes, estabilizadores, espessantes e gelificantes são todos aditivos alimentares que tornam possível elaborar um produto com uma consistência, textura ou até mesmo a cor desejada, de modo a manter os parâmetros pretendidos.

Segundo o Regulamento nº 1333/2008, os emulsionantes são “substâncias que tornam possível a formação ou a manutenção de uma mistura homogênea de duas ou mais fases imiscíveis, como óleo e água, nos géneros alimentícios”. Os estabilizadores “tornam possível a manutenção do estado físico-químico dos géneros alimentícios” e “incluem as substâncias que permitem a manutenção de uma dispersão homogênea de duas ou mais substâncias imiscíveis; as que estabilizam, retêm ou intensificam a cor natural e as que aumentam a capacidade de aglomeração do género alimentício, incluindo a formação de ligações cruzadas entre proteínas que permitem a aglomeração dos elementos alimentares para a formação de um género alimentício reconstituído”. Os espessantes “aumentam a viscosidade dos géneros alimentícios” e os gelificantes “dão textura aos géneros alimentícios através da formação de um gel”.

4.4.2.1. Pectina

A pectina (E440) é um polissacarídeo que, juntamente com a celulose e hemicelulose, formam o material estrutural das paredes celulares dos vegetais, que auxiliam na adesão e na resistência mecânica das células (Bobbio e Bobbio, 2001; Siguemoto, 1993; Whistler e Daniel, 1985) e estão associadas ao processo de maturação dos frutos (Rauch, 1965). A pectina e a celulose são responsáveis pelas propriedades estruturais, firmeza e textura da planta (Grosso, 1992).

A pectina é um hidrocolóide e em função de seu caráter hidrofílico, devido à presença de grupos polares, apresenta a propriedade de envolver grande quantidade de água, produzindo uma solução viscosa. Em função dessa capacidade, a pectina é amplamente utilizada, principalmente no processamento de frutas, como geleias, doces, produtos de confeitaria, sumos de frutas e em outros ramos da indústria de alimentos (Bowers, 1992; Vibhakara e Bawa, 2006). As pectinas são utilizadas como aditivos em alimentos, pois apresentam propriedades emulsionantes, estabilizadoras, espessantes e gelificantes. A pectina, mesmo não sendo um verdadeiro emulsionante, ajuda a estabilizar as emulsões, tem propriedades espessantes que aumentam a viscosidade dos alimentos sem alterar significativamente as suas restantes propriedades e têm

características gelificantes que dão textura aos géneros alimentícios através da formação de um gel (Reg. nº 1333/2008).

As principais fontes de extração de pectina são os subprodutos da indústria citrícola, mais especificamente a casca do limão e da lima, e da indústria de sumo de maçã (Glicksman, 1982; Jackix, 1988; Rolin, 2002). Para Bobbio e Bobbio (2003a e 2003b), as pectinas localizam-se em tecidos pouco rígidos, como no albedo de frutas cítricas e na polpa de beterraba. Os autores afirmam que o teor de pectina em frutas cítricas é de 30% a 35%. Em função da fonte da qual é extraída, a pectina varia consideravelmente na sua capacidade de formar géis, em função das diferenças de tamanho da cadeia de ácido poligalacturónico, do grau de esterificação e dos seus grupos carboxílicos. O procedimento de extração, localização da pectina no tecido da planta, e o teor de açúcares neutros presentes, determinam consideráveis variabilidades nas suas características finais (Barrera *et al.*, 2002).

A composição e as propriedades das pectinas variam de acordo com a fonte, o processo de extração utilizado e os tratamentos posteriores à extração (Fennema, 1996). Para as padronizar foram estabelecidos alguns parâmetros de classificação como o grau da pectina e o grau de metoxilação (Glicksman, 1982; Jackix, 1988). O grau da pectina corresponde ao seu poder de gelificação, designado por "SAG", sendo definido como o número de gramas de açúcar que um grama de pectina é capaz de transformar em gel, de consistência padronizada em condições pré-determinadas (Jackix, 1988; Soler, 1991).

As matérias-primas mais importantes para a extração comercial de pectina, como referido anteriormente, constituem-se na polpa de maçã e cascas de frutas cítricas (subprodutos da indústria de sumos), as quais dão origem a pectinas de alto grau de metoxilação (ATM). Algumas fontes vegetais, como o girassol, são fontes de pectinas de baixo teor de metoxilação (BTM) (Yokoi *et al.*, 2002; Wicsenborn *et al.*, 1999;).

O grau de metoxilação ou esterificação (GM ou GE) relaciona-se com a quantidade de ácidos galacturónicos esterificados com grupos metil (CH₃). Nas pectinas de alta metoxilação, 50% ou mais dos ácidos galacturónicos apresentam-se esterificados com metanol e nas pectinas de baixa metoxilação, menos de 50% apresentam-se esterificados (Castro, 2003; Siguemoto, 1993; Turquois *et al.*, 1999; Whistler, 1985).

Todas as pectinas de alta metoxilação (ATM) formam géis que são termorreversíveis e requerem diferentes condições para sua completa geleificação (Bobbio e Bobbio, 2001). A maior parte das pectinas de alta metoxilação (GM >50%) é

utilizada na elaboração de doces e geleias de frutas com alta concentração de açúcares (Godoy, 2010). Segundo Grosso (1992) a formação do gel de pectina ATM depende, não somente da hidratação do açúcar, mas também da maior ou menor capacidade de diferentes estruturas dos açúcares interagirem com a pectina.

A principal aplicação das pectinas de BTM (figura 3) é feita na produção de doces e geleias com baixo teor de açúcar, pois esta não necessita de açúcar para gelificar. Estas podem formar géis estáveis na ausência de açúcares, mas requerem a presença de iões bivalentes, como o cálcio, que promovem a formação de ligações entre as moléculas (Bobbio e Bobbio, 2001; Grosso, 1992; Rolin, 2002). Este tipo de pectinas são adequadas a produtos de baixo valor calórico ou sem adição de açúcar, pois é menos sensível ao pH que as pectinas de ATM (Hoef, 2006). Embora não requeiram açúcares para a gelificação, promovem géis de melhor textura (Glicksman, 1982; Whistler e Daniel, 1985).

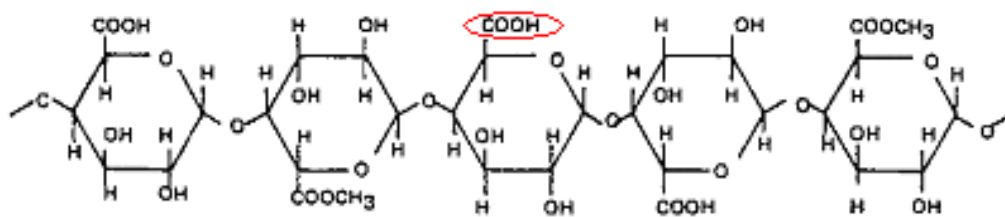


Figura 3 – Pectina de baixo teor de metoxilação (Siguemoto, 1993)

4.4.2.2. Alginato de sódio

Os alginatos são extratos das algas castanhas da classe das *Phacophyceae* em particular das seguintes espécies: *Ascophyllum nodosum*, *Laminaria digitata* e *Fucus serratus*. Aparecem na maioria das costas rochosas e encontram-se sobretudo no Atlântico Norte, na Grã-Bretanha, França (Bretanha) e Noruega. Estes são macromoléculas lineares constituídas por dois monómeros ligados em (1-4): o ácido β -D-manurónico e o ácido α -L-gulurónico. A composição do alginato varia de acordo com as condições climáticas e com crescimento das próprias algas (II, 2013).

Alginato de sódio (E401) é um composto químico, que representa o sal de sódio do ácido algínico. A sua fórmula química empírica é $\text{NaC}_6\text{H}_7\text{O}_6$. É usado na indústria de alimentos como espessante, emulsionante, estabilizante e gelificante (Regand e Goff, 2003). Para gelificar, o alginato de sódio reage com iões de cálcio (ou com outros iões

bivalentes) e formam um gel termo irreversível (não retorna ao estado líquido com o calor). O alginato de sódio é um polissacárido natural, solúvel em água (Haug *et al.*, 1966; Wang *et al.*, 1994).

4.4.2.3. Goma de alfarroba

As gomas são polissacarídeos não metabolizados pelas enzimas digestivas e têm uma ação idêntica a determinadas fibras alimentares. Assim, ajudam a regular o trânsito intestinal. No entanto, devem ser consumidas com moderação (Lidon e Silvestre, 2007).

A goma de alfarroba (E410) é extraída das sementes do fruto da alfarrobeira onde tem um papel de hidrato de carbono de reserva e tem uma elevada qualidade como espessante, estabilizadora e emulsionante em múltiplas utilizações na indústria alimentar, farmacêutica, têxtil e cosmética (Batlle e Tous, 1990; Santos *et al.*, 2005). A alfarrobeira (*Ceratonia siliqua*) é uma espécie subtropical da família *Leguminosae* (sin. *Fabaceae*), subfamília *Caesalpinioidea* e género *Ceratonia* (Tucker, 1992; Yousif e Alghzawi, 2000;).

A polpa, tradicionalmente utilizada para a alimentação animal, apresenta outras utilizações mais nobres, como sejam o fabrico de farinhas alimentares e dietéticas, a obtenção de álcoois e aguardentes, de xarope e da farinha de alfarroba torrada (Graça e Custódio, 2000). Tem sido descrita a capacidade da polpa de alfarroba modular o perfil lipídico do sangue em humanos (Gruendel *et al.*, 2007) podendo ter um efeito preventivo no tratamento de níveis elevados de colesterol (Zunft *et al.*, 2003). Os antioxidantes naturais existentes na polpa do fruto constituem produtos de potencial interesse na indústria alimentar (Batista e Amaral, 1996; Makris e Kefalas, 2004).

As vagens do fruto da alfarroba têm sido muito utilizado na alimentação humana, incluindo doces, biscoitos e bebidas processados, devido ao seu alto teor de açúcar e baixo preço (Khair *et al.*, 2001).

4.4.3. Conservantes

Os conservantes são “substâncias que prolongam o prazo de conservação dos géneros alimentícios protegendo-os contra a deterioração causada por microrganismos e/ou contra o desenvolvimento de microrganismos patogénicos” (Reg. nº 1333/2008).

Nenhum conservante é substituto da matéria-prima, ou do manuseio e instalações industriais dentro dos padrões sanitários exigidos ou para melhorar a qualidade de alimentos parcialmente deteriorados.

4.4.3.1. Sorbato de potássio

O ácido sórbico foi extraído pela primeira vez em 1859, pelo professor A. W. Von Hoffmann. Este ácido gordo insaturado (ácido 2,4-hexadienoico) apresenta eficiência antimicrobiana reconhecida há mais de 70 anos. Os sorbatos são potentes inibidores de bolores e leveduras, possuindo pouca ou nenhuma efetividade na inibição de bactérias (no caso do ácido sórbico). Tanto o ácido como o sorbato de potássio (E202) são utilizados em alimentos com pH inferior a 6,5 e de grande valor nutricional, tais como os queijos, laticínios, carnes, produtos à base de peixe, pão e produtos de confeitaria. Este composto não deve ser utilizado em produtos fermentados, pois inibe a ação da levedura.

O ácido sórbico, ao contrário de seu sal, o sorbato de potássio, é dificilmente solúvel em água. O sorbato de potássio adiciona-se diretamente aos produtos alimentares, ou através do tratamento das superfícies, por pulverização ou submersão.

O organismo humano metaboliza o ácido sórbico da mesma forma que os ácidos gordos insaturados (β -oxidação). Este ácido e seus sais, incluindo o sorbato de cálcio, não mostram nenhum sinal de toxicidade aguda, subaguda e crônica (Food Ingredients, 2011).

Como conservantes, os sorbatos são os que têm melhores efeitos, tanto em termo de versatilidade, quanto ao largo espectro de microrganismos cujo crescimento inibem. Tem a vantagem de não possuir odor ou sabor (Lidon e Silvestre, 2007).

No processo de produção de doces deve-se ter em conta o tempo de cozedura e pode-se adicionar sorbato de potássio até 1000 mg/kg (teor máximo legislado) (Decreto-Lei nº121/98).

4.4.4. Edulcorantes

A adoção de hábitos alimentares saudáveis tornou-se prioridade para muitos consumidores. Com isto, é cada vez mais frequente a substituição do consagrado açúcar (sacarose) pelos produtos conhecidos como edulcorantes, com o objetivo de reduzir a quantidade de calorias a ser ingerida.

Os edulcorantes são substâncias naturais ou sintéticas de sabor doce cujo valor energético é insignificante (ou não existe) e portanto não tem valor nutritivo, sendo utilizados em substituição dos açúcares (energéticos e nutritivos). Estes são mais poderosos que a sacarose. Assim, basta utilizar em pequenas quantidades para conferirem o sabor doce ao alimento, o que pode conduzir a uma diminuição da ingestão de calorias e ajudar a reduzir a energia fornecida pelo alimento, podendo ser ingeridos por diabéticos (Hark, 2005).

Nos termos da legislação da União Europeia, os edulcorantes devem ser aprovados e autorizados antes de serem utilizados. Os edulcorantes usados na produção de alimentos são normalmente sujeitos a determinadas condições de uso, ou seja, a lei especifica os alimentos aos quais se pode adicionar e em que quantidades.

Edulcorantes sintéticos ou artificiais (tabela 5) são aditivos intencionais, usados para promover ou intensificar o sabor adocicado de um alimento, substituindo os açúcares convencionais na elaboração de alimentos destinados a consumidores que necessitam perder peso (alimentos *light*) e a diabéticos que precisam restringir a ingestão de sacarose ou glucose como os alimentos dietéticos (*diet*) (Baruffaldi, 1991; Mariz e Midio, 2000;). Os edulcorantes sintéticos compreendem o aspartame, o ciclamato, a sacarina, o acesulfame K e a sucralose. O seu uso intensivo poderá provocar alterações metabólicas, hipertensão e doenças cardíacas.

Os edulcorantes naturais (tabela 6) compreendem a frutose (açúcar de frutos, referida anteriormente em açúcares), sorbitol, manitol e glicosídeos, como o esteviosídeo (Campos, 1993).

Tabela 5 – Edulcorantes sintéticos (Adaptado de: Cândido e Campos, 1996; Hark, 2005; Lidon e Silvestre, 2007; Morris, 2006).

Substância	kcal/g	Origem	Poder de adoçar em relação ao açúcar refinado	Estabilidade em temperaturas altas	Sabor residual	Observações
Aspartame	4	combinação dos aminoácidos: fenilalanina e ác. aspártico	200 vezes mais	não é aconselhável	não apresenta	É o adoçante sintético mais utilizado.
Ciclamato	0	substância derivada do petróleo	50 vezes mais	sim	pode apresentar pequeno sabor residual	Muito utilizado em combinação com outras substâncias.
Sacarina	0	substância derivada do petróleo	300 vezes mais	sim	não apresenta	Muito utilizado em combinação com outras substâncias.
Acessulfame-k	0	substância derivada do potássio	200 vezes mais	sim	não apresenta	Muito utilizado em combinação com outras substâncias. Muito utilizado na indústria.
Sucralose	0	molécula modificada da sacarose	600 vezes mais	sim	não apresenta	Muito utilizado em combinação com outras substâncias. Muito utilizado na indústria.

Temos como exemplos de edulcorantes sintéticos ou artificiais, o aspartame, o ciclamato, a sacarina, o acesulfame K e a sucralose.

O aspartame (E951) foi descoberto por James Schlatter em 1965 e é um éster metílico de dois aminoácidos, a fenilalanina e o ácido glutâmico, ou seja, um éster metílico de L-aspartil-L-fenilalanina. Este açúcar sintético é 200 vezes mais doce que a sacarose, é inodoro e pouco solúvel em água e em álcool. O seu valor calórico é de 4 kcal/g (Cândido, 1996; Hark, 2005; Lidon e Silvestre, 2007; Penny, 1992; Wells, 1989). Este pode aumentar o risco de cancro, em especial o do pulmão e do fígado, e até poderá estar na origem de um maior risco de parto prematuro. As pessoas com

fenilcetonúria não podem ingeri-lo, sob pena de causar danos cerebrais: é uma doença congénita que se caracteriza pela falha de uma enzima que metaboliza a fenilalanina no sangue (aminoácido que aparece na digestão do aspartame). Os rótulos dos alimentos devem mencionar que “contêm uma fonte geradora de fenilalanina”. Nalgumas pessoas sensíveis ao aspartame, podem surgir reações alérgicas, cefaleias e perturbações da visão (Food Ingredients, 2013).

O ciclamato (E952) ou ácido ciclohexano sulfâmico, segundo Stabile (1991), foi descoberto em 1937 por Michael Sveda. É 30 a 40 vezes mais doce que a sacarose. Não é calórico e apresenta sabor semelhante ao do açúcar (Cândido, 1996; Stabile, 1991). Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO) pode produzir alergias, cancro e mutações. Os ciclamatos estão proibidos nos Estados Unidos, Japão, Inglaterra e França. O seu uso é contraindicado para grávidas. Não aconselhado devido a potenciais efeitos cancerígenos (Food Ingredients, 2013).

A sacarina (E 954) ou ácido sulfamoilbenzóico foi descoberto em 1879, por Remsen e Fahiberg na Universidade John Hopkins, EUA. Os sais são normalmente usados em formulações de alimentos e bebidas. O seu poder edulcorante é de 300 a 500 vezes superior à da sacarose. Não apresenta gosto residual amargo em baixas concentrações (Cardello *et al.*, 2000). Não tem calorias (Cândido, 1996; Hark, 2005; Stabile, 1991) e a ingestão diária aceitável (IDA) segundo a FAO/WHO é de 2,5mg/kg de peso corporal (Stabile, 1991). É um derivado do petróleo e não é aconselhável o seu uso por mulheres grávidas. Não aconselhado devido a potenciais efeitos cancerígenos (Food Ingredients, 2013).

O acesulfame-K (E950) ou acessulfame de potássio é um sal de potássio que foi descoberto em 1967 por Karl Claus da Hoescht. É cerca de 200 vezes mais doce que a sacarose. Não é calórico (Cândido, 1996; Hark, 2005; Kretchmer e Hollenbeck, 1991; Lidon e Silvestre, 2007; Stabile, 1991; Wells, 1989) e a dose diária aceitável segundo a FDA é de 15mg/kg de peso corporal. Não aconselhado durante a gravidez.

A sucralose (E 955) é um açúcar modificado com átomos de cloro, descoberto em 1976, derivado da sacarose e é cerca de 600 vezes mais doce que esta (Hark, 2005).

Tabela 6 – Edulcorantes naturais (Adaptado de: Cândido, 1996; Hark, 2005; Lidon e Silvestre, 2007; Morris, 2006;).

Substância	kcal/g	Origem	Poder de adoçar em relação ao açúcar refinado	Estabilidade em temperaturas altas	Sabor residual	Observações
Frutose	4	Frutas e mel	170 vezes mais	não é aconselhável	não apresenta	Pessoas diabéticas devem consultar o médico antes de usar.
Sorbitol	4	Frutas e algas vermelhas	50% menos	sim	não apresenta	Pessoas diabéticas não podem usar. Muito utilizado em combinação com outras substâncias.
Manitol	2,4	Frutas, vegetais, algas marinhas e produzido comercialmente a partir da glucose	45% menos	sim	não apresenta	Muito utilizado em combinação com outras substâncias.
Esteviosídeo (stevia)	0	planta Stevia	300 vezes mais	sim	pode apresentar pequeno sabor residual	

Como edulcorantes naturais temos o glicosídeo de esteviol (esteviosídeo), os polióis (sorbitol, manitol - E421, xilitol – E967, lactitol) e frutose (Campos, 1993).

O sorbitol (E420) distingue dois aditivos: o sorbitol e o xarope de sorbitol (E420i e E420ii). Para além de edulcorante este aditivo apresentam ainda as funções de humidificante, sequestrante, espessante e emulsionante (Hark, 2005; Lidon e Silvestre, 2007). Tem as mesmas vantagens e inconveniências da frutose, porém pode causar diarreia se for consumido em excesso. É o edulcorante geralmente utilizado nas gomas de mascar "sem açúcar". No fígado pode ser transformado em glucose e frutose (Food Ingredients, 2013).

O manitol (E421) é utilizado nos produtos alimentares como estabilizador, agente levedante e humidificante. (Hark, 2005; Lidon e Silvestre, 2007;)

4.4.4.1. Descrição da planta *Stevia rebaudiana*

Stevia rebaudiana Bertonni (figura 4) é uma pequena planta da família *Asteraceae* (*Compositae*). Esta planta é nativa da América do Sul e tem sido usada como edulcorante em bebidas e alimentos desde 1600 (Glinsukon *et al.*, 1988). Foi botanicamente classificada em 1899 por Moisés Santiago Bertonni.



Figura 4 – Planta *Stevia rebaudiana* Bertonni

Embora a stevia continue a ser uma planta rara no seu habitat natural, a produção agrícola na América do Sul e Ásia, e o seu uso ornamental na Europa e na América do Norte, disseminaram a sua ocorrência pelo mundo. Talvez mais comum do que já foi no passado, as tribos do Paraguai e do Brasil utilizam-na para adoçar em erva-mate e chás medicinais para o tratamento de azia e outros males (Brandle e Telmer, 2007). Estudos revelaram que a stevia tem sido usada desde os tempos antigos para diversos fins em todo o mundo (Goyal *et al.*, 2010).

Atualmente, a stevia é bem conhecida pelo seu alto teor de diterpenos doces (cerca de 4-20% expressos base seca de folhas) (Ghanta *et al.*, 2007). Entre as 230 espécies do género *Stevia*, somente a espécie *rebaudiana* e *phlebophylla* produzem glicosídeos de esteviol (Brandle e Telmer, 2007). Os glicosídeos de esteviol produzem um sabor doce, mas não têm valor calórico. Em média, o poder edulcorante dos glicosídeos de esteviol é 250-300 vezes maior do que o da sacarose. Estes glicosídeos apresentam baixa solubilidade em água e pontos de fusão elevados (Chatsudhipong e Muanprasat, 2009; Crammer e Ikan, 1987; Gardana *et al.*, 2010).

4.4.4.1.1. Composição físico-química e nutricional da stevia

Os benefícios associados à stevia são principalmente devidos à sua composição nutricional (tabela 7). É uma boa fonte de hidratos de carbono, proteínas, minerais, fibras e aminoácidos, que promovem a redução de riscos de certas doenças. As raízes e folhas da *S. rebaudiana* têm polissacarídeos com importantes propriedades funcionais relacionadas com pré-bióticos, fibras alimentares, metabolismo lipídico e controlo de diabetes. Indica também uma possível aplicação de extratos como um suplemento dietético (Braz de Oliveira *et al.*, 2011).

Tabela 7 – Composição nutricional de folhas secas de stevia (g/100g base seca)

Componentes	Referências						
	Mishra <i>et al.</i> (2010)	Goyal <i>et al.</i> (2010)	Serio (2010)	Savita <i>et al.</i> (2004)	Abou-Arab <i>et al.</i> (2010)	Tadhani e Subhash (2006)	Kaushik <i>et al.</i> (2010)
Humidade	7	4,65	ND	7,0	5,37	ND	7,7
Proteína	10	11,20	11,2	9,8	11,40	20,40	12,0
Gordura	3	1,90	5,6	2,5	3,73	4,34	2,7
Cinza	11	6,30	ND	10,5	7,41	13,10	8,4
Carboidratos	52	ND	53,0	52,0	61,90	35,20	ND
Fibra	18	15,20	15,0	18,5	15,50	ND	ND
ND, não determinado							

Fonte: Roberto *et al.*, 2012.

Além das proteínas, fibras e hidratos de carbono, são uma boa fonte de potássio, cálcio, magnésio, sódio, ferro, fósforo, zinco (tabela 8), rutina (flavonóide), vitamina C e vitamina A (Kim *et al.*, 2002).

Tabela 8 - Conteúdo de minerais de folhas secas de stevia (mg/100g)

Minerais	Referências					
	Mishra <i>et al.</i> (2010)	Goyal <i>et al.</i> (2010)	Serio (2010)	Tadhani e Subhash (2006)	Kaushik <i>et al.</i> (2010)	Abou-Arab <i>et al.</i> (2010)
Cálcio	464,4	544,0	600,0	1550,0	722,0	17,70
Fósforo	11,4	318,0	318,0	350,0	ND	ND
Sódio	190,0	89,2	ND	160,0	32,7	14,93
Potássio	1800,0	1780,0	1800,0	2510,0	839,0	21,15
Ferro	55,3	3,9	3,9	36,3	31,1	5,89
Magnésio	349,0	349,0	500,0	ND	ND	3,26
Zinco	1,5	1,5	ND	6,4	ND	1,26
ND, não determinado						

Fonte: Roberto *et al.*, 2012.

S. rebaudiana é rica em terpenos, flavonoides e taninos. Tem na sua constituição β -caroteno, riboflavina, esteviol, esteviosídeo e tiamina (Gardana *et al.*, 2010; Jayaraman *et al.*, 2008; Tadhani e Subhash, 2006;).

Os compostos fenólicos, como taninos e flavonóides, possuem atividade antioxidante e impedem danos oxidativos causados por radicais livres, como já referido anteriormente (Bharani *et al.*, 1995; Buyukokuroglu *et al.*, 2001; Devasagayam *et al.*, 2004; Shukla *et al.*, 2011).

4.4.4.1.2. Constituintes com capacidade edulcorante da stevia, os glicosídeos de esteviol

O primeiro composto edulcorante isolado das folhas de stevia foi designado como esteviosídeo e foi obtido por Rebaudi e Resenac (Crammer e Ikan, 1986). Durante os anos 1970, foram isolados outros compostos, incluindo rebaudiosídeo A, com poder edulcorante mesmo superior ao esteviosídeo (Barriocanal *et al.*, de 2008).

As folhas da stevia contêm uma mistura complexa de oito glicosídeos diterpenos doces, incluindo o esteviosídeo, o esteviolbiosídeo e os rebaudiosídeos (A, B, C, D, E e F) (Kretchmer e Hollenbeck, 1991; Geuns, 2003; Abou-Arab *et al.*, 2010).

O esteviosídeo tem a fórmula química de um glicosídeo diterpeno ($C_{38}H_{60}O_{18}$). É cerca de 300 vezes mais doce do que a sacarose e não é calórico (Cândido e Campos, 1996; Kinghorn e Sojarto, 1985). Este é o principal glicosídeo doce, que representa cerca de 6 a 8% em folhas secas de stevia (Vis e Fletcher, 1956). O seu sabor é

semelhante ao da sacarose, contudo é mais persistente e tem um sabor residual amargo de mentol. Não é metabolizável nem calórico. Estas moléculas são muito estáveis em soluções aquosas numa larga gama de pH e temperatura (Abou-Arab *et al.*, 2010; Virendra e Kalpagam, 2008).

O rebaudiosídeo A é conhecido por ser ainda mais doce, cerca de 250 até 450 vezes que a sacarose e pode ser refinado para uma pureza superior a 97%. Em comparação com a sacarose, o rebaudiosídeo B é cerca de 300-350 vezes mais doce, o rebaudiosídeo C é cerca de 50-120 vezes, o rebaudiosídeo D é 250-450 vezes, o rebaudiosídeo E é 150-300 vezes e o steviolbiosídeo é 100-125 vezes.

Os glicosídeos de esteviol (E960) (figura 5) são atualmente usados como edulcorantes numa série de alimentos industriais, tais como refrigerantes ou sumos de frutas (Goyal *et al.*, 2010, Jayaraman *et al.*, 2008, Tadhani e Subhash, 2006; Wallin, 2007), sobremesas, molhos, pães e biscoitos. Eles substituem a sacarose, por exemplo, em cereais (Wallin, 2007), pickles (Koyama *et al.*, 2003), iogurte (Amzad-Hossain *et al.*, 2010; Tadhani e Subhash, 2006; Wallin, 2007), doces (Goyal *et al.*, 2010; Koyama *et al.*, 2003), molho de soja (Amzad-Hossain *et al.*, 2010; Tadhani e Subhash, 2006) e frutos do mar (Goyal *et al.*, 2010; Koyama *et al.*, 2003).

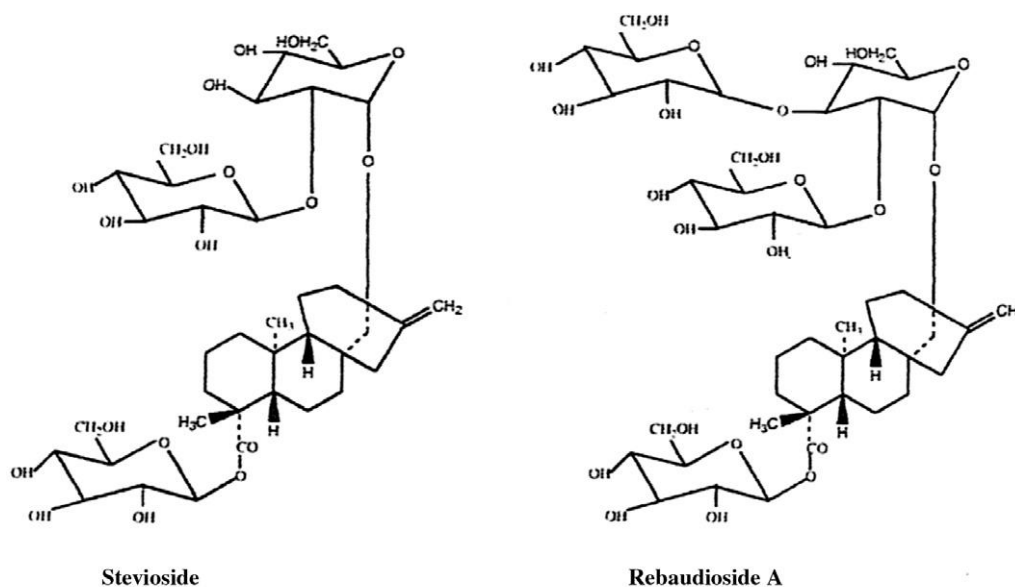


Figura 5 – Estrutura de dois glicosídeos de esteviol (WHO, 2006)

A stevia tem sido consumida por seres humanos há séculos, sem quaisquer efeitos negativos. Isto demonstra as vantagens de stevia como um ingrediente para a

indústria alimentar, tornando-a assim um substituto adequado para a sacarose ou como alternativa a edulcorantes artificiais (Anton *et al.*, 2010; Das *et al.*, 2006).

Para além dos seus constituintes doces, a *S. rebaudiana* Bertoni tem atraído interesses económicos e científicos devido à sua doçura e às suas propriedades terapêuticas.

4.4.4.1.3. Propriedades terapêuticas da stevia

A stevia pode oferecer benefícios terapêuticos, uma vez que tem propriedade anti hiperglicémica e anti-hipertensiva, anti-inflamatória, anti tumoral, antidiarreico, diurética e efeitos imunomoduladores (Chatsudhipong e Muanprasat, 2009; Jeppesen *et al.*, 2000; Jeppesen *et al.*, 2002, Jeppesen *et al.*, 2003;).

Extratos de stevia foram usados por sul-americanos para o tratamento de diabetes, durante muitos anos com resultados positivos (Curi *et al.*, 1986; Soejarto *et al.*, 1982).

A stevia e o esteviosídeo têm sido aplicados como substitutos da sacarose e estudos clínicos sugerem o seu consumo para o tratamento de diabetes mellitus, obesidade, hipertensão arterial, doenças cardiovasculares e cárie dentária (Chen *et al.*, 2006; Fujita e Edahiro, 1979; Ghanta *et al.*, 2007; Kinghorn *et al.*, 1998; Pol *et al.*, 2007). O esteviosídeo pode também inibir o crescimento de certas bactérias (Tama Biochemical, 1981; Tomita *et al.*, 1997).

Pensa-se que a stevia possa, provavelmente, inibir o crescimento de certas bactérias e outros organismos infecciosos (Sivaram e Mukundam, 2003). A capacidade da stevia para inibir o crescimento de certas bactérias ajuda a explicar a sua utilização tradicional no tratamento de feridas, úlceras e doença periodontal. Isso também pode explicar por que a erva é defendida para quem está suscetível a infeções por fungos ou infeções estreptocócicas recorrentes, duas condições que parecem ser agravadas pelo consumo de açúcar branco (Debnath, 2008).

A *S. rebaudiana* contém adoçantes não carcinogénicos e não-calórico (glicosídeos de esteviol) cujo consumo poderia exercer efeitos benéficos sobre a saúde humana (Gardana *et al.*, 2010). A stevia possui propriedades biológicas valiosas que servem de tratamento para algumas patologias (tabela 9).

Tabela 9 – Propriedades medicinais de stevia.

Utilização Medicinal	Referências
Melhora a regeneração celular e a coagulação do sangue, suprime o crescimento neoplásico e fortalece os vasos sanguíneos.	Barriocanal <i>et al.</i> , 2008 Jeppesen <i>et al.</i> , 2003 Maki <i>et al.</i> , 2008 Wingard <i>et al.</i> , 1980
Anti-inflamatório	Chatsudthipong e Muanprasat, 2009 Jayaraman <i>et al.</i> , 2008 Sehar <i>et al.</i> , 2008
Propriedades diuréticas e evitam ulceração no trato gastrointestinal	Chatsudthipong e Muanprasat, 2009 Kochikyan <i>et al.</i> , 2006
Antidiarreico	Chatsudthipong e Muanprasat, 2009
Tratamento de diabetes	Chatsudthipong e Muanprasat, 2009 Chen <i>et al.</i> , 2006 Curi <i>et al.</i> , 1986 Fujita e Edahiro, 1979 Ghanta <i>et al.</i> , 2007 Jeppesen <i>et al.</i> , 2000 Jeppesen <i>et al.</i> , 2002 Jeppesen <i>et al.</i> , 2003 Kingham <i>et al.</i> , 1998 Pol <i>et al.</i> , 2007 Soejarto <i>et al.</i> , 1982 Suanarunsawat e Chaiyabutr, 1997 Toskulkao <i>et al.</i> , 1995

Tabela 9 - Propriedades medicinais de stevia (continuação).

Utilização Medicinal	Referências
Obesidade e hipertensão	Chan <i>et al.</i> , 2000 Chatsudthipong e Muanprasat, 2009 Chen <i>et al.</i> , 2006 Fujita e Edahiro, 1979 Ghanta <i>et al.</i> , 2007 Goyal <i>et al.</i> , 2010 Hsieh <i>et al.</i> , 2003 Jeppesen <i>et al.</i> , 2002 Kinghorn <i>et al.</i> , 1998 Lee <i>et al.</i> , 2001 Pol <i>et al.</i> , 2007
Anti-cariogénico e antigengivite	Blauth de Slavutzky, 2010 Chen <i>et al.</i> , 2006 Das <i>et al.</i> , 1992 Fujita e Edahiro, 1979 Ghanta <i>et al.</i> , 2007 Kinghorn <i>et al.</i> , 1998 Pol <i>et al.</i> , 2007 Suanarunsawat e Chaiyabutr, 1997
Diminuição do teor de açúcar e colesterol no sangue	Atteh <i>et al.</i> , 2008
Colerético, aumenta a secreção biliar	Kochikyan <i>et al.</i> , 2006
Tratamento de cancro	Chatsudthipong e Muanprasat, 2009 Chen <i>et al.</i> , 2006 Jeppesen <i>et al.</i> , 2000 Pol <i>et al.</i> , 2007
Doenças cardiovasculares	Che <i>et al.</i> , 2006 Fujita e Edahiro, 1979 Ghanta <i>et al.</i> , 2007 Kinghorn <i>et al.</i> , 1998 Pol <i>et al.</i> , 2007

4.4.4.1.4. Características toxicológicas da stevia

Estudos toxicológicos demonstraram que a stevia não tem efeitos mutagénicos ou cancerígenos. Do mesmo modo, as reações alérgicas não foram observadas quando usada como um edulcorante (Abou-Arab *et al.*, 2010; Pol *et al.*, 2007). Estudos recentes sobre a toxicidade geral e reprodutiva do rebaudiosídeo A, demonstraram a sua segurança em altos níveis de ingestão alimentar (Carakostas *et al.*, 2008; Gardana *et al.*, 2010).

A toxicologia de esteviosídeo tem sido extensivamente estudada e os dados, que têm sido relacionados e reavaliados, indicam que não é tóxico, nem mutagénico, nem carcinogénico. Vários estudos demonstraram que a ingestão oral de esteviosídeo não tem nenhum efeito sobre a fertilidade (Akashi e Yokoyama, 1975; Mori *et al.*, 1981; Xili *et al.*, 1992; Yodyingyuad e Bunyawong, 1991). Não foram observados efeitos adversos da stevia.

4.4.4.1.5. Legislação aplicável ao uso alimentar da stevia

O Regulamento nº 1131/2011, que altera o anexo II do Regulamento (CE) nº 1333/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho no que se refere aos glicosídeos de esteviol, indica no ponto (2) que a “A Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos avaliou a segurança dos glicosídeos de esteviol, extraídos das folhas da planta *Stevia rebaudiana* Bertoni, como adoçante e definiu uma Dose Diária Admissível (DDA) para os glicosídeos de esteviol, expressa em equivalentes de esteviol, de 4 mg/kg de peso corporal/dia. As previsões mais prudentes da exposição aos glicosídeos de esteviol, nos adultos e em crianças, sugerem ser provável que a DDA seja ultrapassada se cumpridos os teores máximos de utilização propostos”.

5. Materiais e métodos

Ao desenvolver as formulações dos doces de medronho sem adição de açúcar (sacarose) pretendeu-se produzir um produto de boa qualidade e com aspeto, sabor (doce) e textura idêntico aos doces tradicionais. Sendo assim, desenvolveram-se várias formulações e teve-se em conta os aspetos sensoriais, físico-químicos, microbiológicos e nutricionais do produto.

5.1. Desenvolvimento do produto

As formulações dos doces de medronho foram desenvolvidas no Laboratório da Oficina Tecnológica de Hortofrutícolas, no Departamento de Ciência e Tecnologia Alimentar da Escola Superior Agrária de Coimbra. Para realizar as formulações utilizou-se um fogão com dois discos elétricos, onde num se realizou o processo de cozedura do doce e, no outro, se procedeu à esterilização dos frascos de vidro e respetivas tampas.

O processo de produção de doces de medronho desenvolveu-se à escala laboratorial e consistiu no desenvolvimento de várias e sucessivas formulações, ao longo de sete meses de modo a chegar à formulação pretendida, com a consistência, doçura e qualidade de um doce tradicional, tendo em conta todos os cuidados de higiene e procurando satisfazer as necessidades e preferências dos consumidores. A tabela 10 apresenta as formulações desenvolvidas (referidas em texto com a letra F seguindo de um número) com as respetivas percentagens dos ingredientes utilizados de acordo com a quantidade de medronhos usados.

Inicialmente tentou-se perceber qual o resultado da cozedura só com medronhos (F1 e F5) e depois com junção de água e pectina (F2). Depois fizeram-se dois ensaios com sumo concentrado de maçã e com pectina (F3 e F4).

Mais tarde usou-se sumo concentrado de uva em várias concentrações, pois este é incolor, inodoro e não altera a cor nem o sabor do produto final. Desenvolveram-se várias formulações, às quais se adicionou aos medronhos o sumo concentrado de uva (F6), sumo concentrado e pectina (F7) e por fim sumo concentrado, pectina e água (F8 e F9).

De seguida, adicionou-se citrato de cálcio em solução de 1%, pois devido ao produto de baixo teor de açúcares pretendido, a pectina usada é de baixo metoxilo que, por tal motivo, necessita de cálcio para gelificar. Depois de conjugar a água, o sumo

concentrado de uva, a pectina e o citrato de cálcio (F10, F11, F12, F16, F17 e F18), procedeu-se à adição de ácido cítrico, uma solução de 2% (F13). Com a quantidade de ácido cítrico estabelecida, determinou-se também a quantidade de stevia a adicionar, em solução de 1% (F15 e F19). Elaborou-se também uma formulação com adição de stevia mas sem adição de ácido cítrico (F14). Da formulação 10 à 19 procedeu-se ao melhoramento do doce do qual se alterou algumas das concentrações dos diversos ingredientes.

No final das formulações efetuadas procedeu-se ao melhoramento da textura do doce ao adicionar num ensaio alginato de sódio, noutra goma de alfarroba e outro ensaio ainda em que ambos aditivos foram adicionados. A estas formulações foi também adicionado sorbato de potássio de modo a conservar o produto depois de aberto.

Nas formulações realizadas houve diferenças ao nível da polpa de medronho. Uns doces foram testados com polpa sem grainhas, sendo estas retiradas com passe-vite, coador ou pano de algodão poroso, outros com várias concentrações de grainhas e também formulações de doce em que se triturou tudo (polpa e grainhas) e outras em que se adicionou à polpa metade das grainhas trituradas.

Tabela 10 – Formulações desenvolvidas com as quantidades percentuais dos ingredientes adicionados

Formulação	Sumo Conc. Maçã (%)	Sumo Conc. Uva (%)	Água (%)	Pectina (%)	Sol. Citrato de Cálcio 1% (%)	Sol. Ácido Cítrico 2% (%)	Stevia 1% (%)	Alginato de Sódio (%)	Goma de Alfarroba (%)	Sorbato de Potássio (%)
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	99	2,0	-	-	-	-	-	-
3	99	-	-	2,0	-	-	-	-	-	-
4	70	-	-	10,0	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	28	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	12	-	0,7	-	-	-	-	-	-
8	-	23	99	3,8	-	-	-	-	-	-
9	-	45	100	4,6	-	-	-	-	-	-
10	-	27	45	0,6	5	-	-	-	-	-
11	-	26	38	0,6	6	-	-	-	-	-
12	-	27	38	0,3	7	-	-	-	-	-
13	-	27	29	0,3	7	10	-	-	-	-
14	-	27	33	0,3	7	-	5	-	-	-
15	-	27	23	0,3	7	10	5	-	-	-
16	-	27	38	0,3	7	-	-	-	-	-
17	-	120	171	1,2	28	-	-	-	-	-
18	-	30	37	0,3	7	-	-	-	-	-
19	-	15	14	0,1	4	5	3	-	-	-
20-37	*									

*As formulações não são apresentadas por se encontrarem sob sigilo.

De modo a desenvolver a melhoria do doce realizaram-se duas provas sensoriais, que serviram para avaliar a aceitabilidade do produto perante consumidores.

Depois de obtida a formulação pretendida procedeu-se ao estudo de tempo de vida útil para analisar qual a validade do produto.

A figura 6 apresenta de forma genérica o diagrama do processo de produção do doce de medronho sem adição de sacarose. De seguida, apresenta-se a descrição das etapas do processo de produção.

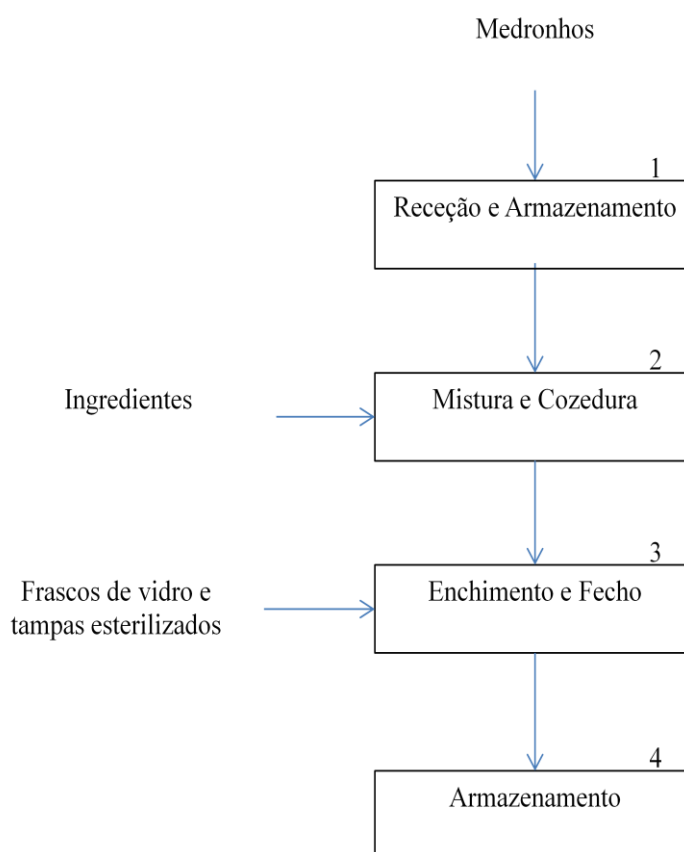


Figura 6 – Diagrama de produção do doce de medronho sem adição de sacarose

1. Receção e armazenamento - a colheita dos medronhos foi feita na região de Oleiros, Castelo Branco, numa plantação com 5 anos, onde em novembro e janeiro se fez a apanha e se seleccionou, na maioria, medronhos maduros e alguns mais verdes para proceder às formulações dos doces. Foram posteriormente limpos e armazenados em congelação.

2. Mistura e cozedura - aos medronhos adicionou-se os ingredientes (água, sumo concentrado de uva branca, ácido cítrico, citrato de cálcio, pectina, goma de alfarroba,

alginato de cálcio, stevia e sorbato de potássio) e deixou-se ferver. Os ingredientes são adicionados lentamente, um de cada vez, por ordem conveniente sob agitação constante de modo a ter uma mistura homogénea e sem grumos.

3. Enchimento e fecho – ao terminar o processo de cozedura, quando alcançado o °Brix desejado (35 °Brix), procedeu-se ao enchimento a quente do produto em frascos devidamente higienizados, sendo a capsulagem efetuada de imediato com tampas também devidamente higienizadas. O espaço livre ou espaço de cabeça nos recipientes não deve exceder 5% do volume útil dos mesmos. Depois de fechados, os frascos são invertidos durante um a dois minutos e depois colocados na posição normal. Pretende-se com isto submeter a face interna da tampa à temperatura do doce e proceder assim à destruição de eventuais microrganismos ali presentes.

4. Armazenamento – os frascos de doce de medronho são armazenados à temperatura ambiente, num local fresco e seco.

Por uma questão de confidencialidade, o diagrama e a formulação do doce de medronho otimizado durante este trabalho, são apresentados de forma genérica.

5.2. Controlo analítico do doce durante a fase de melhoramento da formulação

Durante o desenvolvimento do produto realizaram-se análises físico-químicas ao fruto e ao produto final de modo a verificar alguns parâmetros e suas alterações.

Ao iniciar o processo foram feitas leituras de pH e do teor de sólidos solúveis (°Brix) aos medronhos. Durante a cozedura foram feitas leituras do teor de sólidos solúveis de modo a obter um doce final com aproximadamente 35 °Brix.

5.3. Controlo físico-químico do doce durante o estudo de tempo de vida útil

De dois em dois meses foram realizadas análises físico-químicas ao produto final armazenado à temperatura ambiente e à temperatura de 37 °C (TA e TQ, respetivamente). Analisaram-se vários parâmetros como a textura, a atividade da água, a cor, o pH, o teor de sólidos solúveis e a acidez total (o material e equipamentos usados descritos no anexo I).

5.3.1. Análise de textura

As análises de textura foram realizadas por TPA (Texture Profile Analysis) através de um texturómetro, de marca Stable Micro Systems, modelo TA_XT Express Enhanced (Inglaterra). Deste modo fez-se um ensaio à resistência de penetração com uma sonda cilíndrica de 1/4 polegadas (6,35 mm de diâmetro) e analisou-se os seguintes parâmetros: firmeza, adesividade, elasticidade, mastigabilidade, fraturabilidade, gomosidade e coesividade. As análises foram realizadas diretamente em frascos com 40g de doce.

5.3.2. Análise da atividade da água

A atividade da água foi medida através de um higroscópio, de marca Rotronic, modelo Hygroskop BT + WT14 (Suíça), ligado a um banho termostaticado a 25 °C.

A a_w é definida como a relação entre a pressão de vapor de água num produto ou substrato (P) e a pressão de vapor de água pura (P_0), tomadas à mesma temperatura. O efeito do soluto na pressão de vapor de água pode ser definido por um conceito matemático utilizando a Lei de Raoult (válida unicamente para soluções diluídas):

$\frac{P}{P_0} = a_w$. A atividade da água de um alimento corresponde à humidade relativa de equilíbrio $\left(a_w = \frac{HR}{100}\right)$.

5.3.3. Análise da cor

A análise da cor foi realizada em triplicado para cada amostra de doce com um colorímetro de marca Minolta, modelo CR – 200 (Japão), calibrado segundo o protocolo indicado pelo fabricante. Este colorímetro expressa a cor através do sistema CIELab, que se caracteriza por ser um método que define a sensação da cor baseado em três elementos: a luminosidade ou claridade, que corresponde à graduação de claridade ou obscuridade de uma cor; a tonalidade ou matiz que corresponde ao comprimento de onda peculiar de uma cor; e a saturação ou cromaticidade que é a medida de pureza ou intensidade de uma cor (Billmeyer e Salzman, 1981; Melchiades e Boschi, 1999). Este sistema permite a especificação de perceções de cores em termos de um espaço tridimensional, com três eixos perpendiculares (L^* , a^* e b^*). A luminosidade ou claridade é representada pelo eixo L^* que define a escala de cinza entre o preto (0) ao branco (100). A tonalidade ou matiz é expressa pelas cores primárias, o vermelho,

verde, azul e amarelo, as quais são representadas por duas coordenadas cromáticas. A coordenada cromática a^* corresponde à posição do ponto de cor do verde (-a) ao vermelho (+a). Por sua vez, a coordenada cromática b^* corresponde à posição do mesmo ponto de cor do azul (-b) ao amarelo (+b) (CIE, 1986). Adicionalmente, a tonalidade pode ser obtida pelo ângulo de tinta, o qual é representado pela variável h^* , sendo derivado dos parâmetros a^* e b^* $\left(h^* = \arctg\left(\frac{b^*}{a^*}\right)\right)$. A variável C, com relação à saturação ou à cromaticidade, é representada como sendo o desvio a partir do ponto correspondente ao cinza no eixo L^* , em que quanto mais distante do eixo, mais saturada (livre da mistura de branco) será a cor $\left(C = \sqrt{(a^{*2} + b^{*2})}\right)$ (Billmeyer e Salzman, 1981; Camargos e Gonzalez, 2001; Melchiades e Boschi, 1999).

5.3.4. Análise do pH

O pH foi medido através de um potenciômetro digital de leitura direta, de marca Hanna Instruments, modelo HI 9025 (Portugal) e um eletrodo de pH, marca Hanna Instruments, modelo HI 2031 (Portugal). O potenciômetro foi calibrado em pH 7 e pH 4 e após cada medição o eletrodo foi limpo com água destilada. O pH foi medido diretamente nos frascos do doce. As análises foram feitas em duplicado para cada amostra.

5.3.5. Análise do teor de sólidos solúveis

Os sólidos solúveis representam os compostos solúveis em água presentes no fruto ou no doce, como por exemplo açúcares, ácidos, vitaminas, aminoácidos e pectinas. Como a solubilidade dos açúcares depende da temperatura é necessário que o produto esteja à temperatura ambiente ou, dependendo do equipamento, pode-se ter de proceder à correção do teor de sólidos solúveis para a temperatura de 20 °C.

Foi feita a leitura direta do teor de sólidos solúveis através de um refratômetro, de marca ATC, modelo 107916 K (Dinamarca), com resultados expressos em °Brix e com escala compreendida entre os 0 e os 35 °Brix. Utilizou-se outro refratômetro de marca Reichert, modelo Brix 50 (Alemanha), com escala compreendida entre os 0 e os 50 °Brix. As análises foram feitas em duplicado para cada amostra.

5.3.6. Acidez total

Para a determinação da acidez total dos doces utilizou-se um doseador automático (de Hidróxido de Sódio, NaOH), de marca Metrohm, modelo 665 Dosimai (Suíça), onde se procedeu a titulação com uma solução alcalina de hidróxido de sódio, podendo esta titulação ser feita na presença de fenolftaleína ou potenciométricamente.

Ao realizar a titulação, pesaram-se $25 \pm 0,01$ g de doce. Após se desfazer o doce num almofariz, levou-se a ferver lentamente, durante 15 a 20 minutos, numa placa de aquecimento, dentro de um balão de Erlenmeyer de 200ml com cerca de 150 ml de água destilada. De seguida, colocou-se num balão volumétrico de 250 ml e perfez-se com água destilada, quando a temperatura alcançou aproximadamente os 20 °C. Este último procedimento, tem como finalidade diluir e tornar mais visível a mudança de cor depois de se juntar o NaOH 0,1 N. Desta solução, retiraram-se 20 mL, adicionou-se cinco a seis gotas de fenolftaleína e procedeu-se à titulação. As análises foram feitas em duplicado para cada amostra.

Para calcular a acidez total utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\text{Acidez total (\% p/p)} = \frac{0,64 \times V}{V'} \times 10, \text{ onde o } V \text{ é o volume de NaOH 0,1 N}$$

gasto e V' corresponde ao volume de diluição de doce gasta (20 ml). Os resultados são expressos em percentagem de ácido cítrico.

5.4. Controlo microbiológico do doce durante o estudo de tempo de vida útil

As análises microbiológicas são muito importantes para determinar se existe ou não desenvolvimento de microrganismos, como bactérias e fungos. Estes podem ser agentes de alteração do alimento, mesmo que não causem malefícios à saúde do consumidor.

No presente estudo pretendeu-se avaliar a estabilidade microbiológica do produto ao longo de cinco semanas depois da embalagem aberta. Com este intuito realizaram-se semanalmente análises aos doces embalados depois de abertos - correspondendo a 20 amostras - sendo que, após a abertura, uma parte foi colocada no frigorífico (SF) (10 amostras) e a outra deixada à temperatura ambiente (SA) (10 amostras).

Em paralelo pretendeu-se analisar o tempo de vida do doce durante um ano, sendo efetuadas análises microbiológicas de dois em dois meses aos doces armazenados à temperatura ambiente e à temperatura de 37 °C (TA e TQ, respetivamente). Todas as análises foram feitas em duplicado, inclusive as análises iniciais ao doce no tempo T0 (=S0). A tabela 11 refere a planificação das análises microbiológicas realizadas com a respetiva codificação.

Tabela 11 – Planificação das análises microbiológicas semanais e mensais realizadas ao doce de medronho armazenado em diversas condições, com a respetiva codificação.

Condições de armazenamento		Códigos das Amostras
Iniciais		S0=T0
		SF1
Semanais (durantes 5 semanas)	Abertos Temperatura 4 °C	SF2
		SF3
		SF4
		SF5
		SA1
	Abertos Temperatura Ambiente (±20 °C)	SA2
		SA3
		SA4
		SA5
		TA2
Mensais (2 em 2 meses)	Fechados Temperatura Ambiente (±20 °C)	TA4
		TA6
		TQ2
	Fechados Temperatura 37 °C	TQ4
		TQ6

Na avaliação da estabilidade dos produtos durante cinco semanas após abertura e durante 12 meses fechados, avaliaram-se os seguintes parâmetros microbiológicos: o teor de mesófilos aeróbios totais (TAT), o teor de bolores e leveduras (BL), o teor de bactérias lácticas (BAL) e o teor de *Bacillus thermoacidurans* (BTA) (material, soluções e meios referidos no anexo II).

A escolha destes parâmetros teve em atenção as características intrínsecas do produto (a_w , pH e °Brix) e as condições de armazenagem.

A preparação das amostras, dos meios de cultura e do método de determinação de teor de mesófilos aeróbios totais (TAT), de bolores e leveduras (BL), de bactérias lácticas (BAL) e de *Bacillus thermoacidurans* (BTA) foram realizados através das seguintes metodologias (descritas no anexo III):

- o teor de mesófilos aeróbios totais de acordo com a NP-1409 de 1987;
- o teor de bolores e leveduras de acordo com a NP 3277-1 de 1987;
- o teor de bactérias lácticas de acordo com a NP 2309-2 de 1988;
- o teor de *Bacillus thermoacidurans* de acordo com a NP 2309-2 de 1988.

Os resultados são expressos em unidades formadoras de colónias por grama de produto (UFC/g).

5.5. Análise sensorial

Realizaram-se duas provas sensoriais, ambas na Escola Superior Agrária de Coimbra, uma prova de preferência bilateral entre dois doces e outra prova através de testes de escala hedónica, escala de atitude e teste de ordenação de preferência entre quatro doces.

Os dois doces relativos à prova de preferência bilateral estiveram à disposição de potenciais consumidores, acompanhado por tostas, aos quais se pedia para dizer qual o preferido (descrição e ficha de prova no anexo IV). A diferença entre as amostras de doce estava na concentração de grainhas, onde uma tinha 20% das grainhas totais e a outra 50% (formulações F20 e F21). A prova foi realizada por 40 provadores não treinados.

Na prova sensorial em que se realizaram testes de escala hedónica, escala de atitude e teste de ordenação de preferência, os provadores tinham à sua disposição quatro doces de medronho (taças com cerca de sete gramas de doce) e tinham de avaliar vários parâmetros correspondentes a diferentes características (descrição e ficha de prova no anexo V) (figura 7a e 7b). Uma das amostras de doce de medronho tinha as grainhas trituradas (A), outro foi elaborado com polpa e sem grainhas (B), outro tinha apenas 50% das grainhas, sendo todas estas trituradas (C), e outro não tinha grainhas (D), correspondendo às formulações F29, F30, F31 e F32, respetivamente. Realizaram esta prova 35 provadores não treinados, que fizeram a avaliação de parâmetros do doce,

tais como, o aspeto visual, o aroma/odor, o sabor, a textura e a apreciação global. Estes parâmetros foram avaliados numa escala hedónica, com uma escala de 1 a 9, onde o 1 refere que desgostaram extremamente e o 9 de que gostaram extremamente. Avaliou-se a intenção de compra através do teste de escala de atitude de 1 a 5, onde 1 indica que decididamente não comprariam e o 5 que decididamente comprariam. Por fim, procedeu-se à avaliação da ordem de preferência, onde os provadores indicaram por ordem crescente do doce menos preferido ao mais preferido.



Figura 7 – a) Cabines de prova sensorial; b) Tabuleiro cedido a cada provador.

5.6. Análise estatística

Para a escolha do doce final e perante as análises sensoriais efetuadas, verificou-se qual a formulação de doce preferida. Na primeira prova sensorial perante as preferências dos provadores entre duas amostras de doce, procedeu-se ao teste de preferência bilateral de modo a saber se as amostras eram estatisticamente diferentes. Na segunda prova sensorial realizou-se a análise de quatro amostras de doces, através de testes de escala hedónica, teste de escala de atitude e por fim utilizou-se o teste de ordenação de preferência. Com este último teste fez-se à análise de variância por número de ordem de Friedman (adaptado de Siegel e Castellan, 1998), para comparação geral das amostras usando o teste de Friedman, pretendendo-se saber se existem amostras estatisticamente diferentes e após este método procedeu-se à comparação de duas amostras individualmente.

5.7. Análises nutricionais

A composição nutricional do doce de medronho foi realizada num laboratório de análises creditado, a Aquimisa. A tabela 12 apresenta os parâmetros analisados e os métodos analíticos utilizados.

Tabela 12 – Parâmetros analisados e métodos utilizados para análise de composição nutricional

Determinações	Subdeterminações	Método
Energia calculada	Proteína + Gordura + Hidratos de Carbono	Cálculo
Proteína		Volumetria
Gordura (Lípidos)		Hidrólise e Soxlet
Ácidos gordos saturados	Gordura + Humidade	CG
Hidratos de carbono	Gordura + Humidade + Cinzas + Proteínas	Cálculo
Açúcares totais- Sacarose, Glucose, Frutose, Maltose e Galactose		HPLC
Sal	Sódio	Cálculo a partir do sódio
Fibra alimentar total		Gravimetria
Cálcio		A. A.
Ferro		A. A.
Fósforo		PEQ233, EAM
Magnésio		A. A.
Potássio		A. A.
Vitamina A - Retinol		HPLC
Vitamina B3		HPLC
Vitamina C - Acido ascórbico		HPLC
Vitamina E - Alfa tocoferol		HPLC

Legenda: CG – Cromatografia em Fase Gasosa; HPLC - High Performance Liquid Chromatography;

A. A. - Absorção Atômica; EAM - Espectrofotometria de Absorção Molecular.

6. Resultados e discussão

Neste capítulo apresenta-se os resultados e discussão do trabalho desenvolvido durante o processo de desenvolvimento das formulações e das análises realizadas durante a fase das formulações e durante o estudo de tempo de vida útil.

6.1. Desenvolvimento do produto

No desenvolvimento do produto testaram-se várias formulações até se chegar ao produto final com a formulação pretendida.

A tabela 10, apresentada no ponto 5.1, refere as formulações efetuadas com os respetivos ingredientes usados. A tabela 13, apresentada no ponto seguinte, indica o peso inicial de medronhos utilizados nas formulações e o peso final do doce.

As primeiras formulações foram experiências de conjugação de ingredientes. As formulações F1 e F5 caramelizaram rapidamente pois não tinha açúcar nem água. A formulação que continha água e pectina (F2) também caramelizou. Só nas restantes formulações realizadas com adição de sumo concentrado de uva foi possível elaborar um produto com características de doce, sem provocar alteração da cor do produto final. Contudo, pretendeu-se adicionar as quantidades mínimas deste ingrediente.

Na formulação F7 tentou-se verificar qual o resultado ao adicionar enzimas pectolíticas aos medronhos 24 horas antes da confeção do doce, com o intuito de proceder à degradação das grainhas da polpa, sendo que esta estratégia não se mostrou eficaz na sua degradação.

De modo a otimizar o doce de medronho e depois de duas provas de análise sensorial efetuadas, obteve-se o produto com as características pretendidas. Este doce é feito a partir de polpa de medronho sem grainhas e possui a consistência e o sabor aperfeiçoados ao longo do trabalho de desenvolvimento do produto.

6.2. Resultados analíticos do doce durante a fase de formulação

No início do desenvolvimento dos doces realizaram-se análises físico-químicas aos medronhos, referentes ao seu valor de pH e de teor de sólidos solúveis. Durante o processamento dos doces foi verificado o teor de sólidos solúveis até atingir um valor aproximado de 35 °Brix, que é o pretendido para um doce com baixo teor de açúcares. Na tabela 13 são apresentados quer os valores de teor de sólidos solúveis (°Brix), pH e

peso inicial dos medronhos, quer o teor de sólidos solúveis e peso final do doce de medronho nas diversas formulações realizadas.

Tabela 13 – Teores de sólidos solúveis (°Brix), pH e peso inicial dos medronhos e teores de sólidos solúveis e peso final do doce nas diversas formulações realizadas.

Formulação	Peso Medronhos (g)	°Brix Medronhos	pH Medronhos	Peso Doce (g)	°Brix Doce	Observações
1	101,4	17,2	n	20,8	> 30,0	caramelizou
2	100,9	16,0	n	45,0	> 32,0	caramelizou
3	100,9	17,0	3,960	138,0	63,0	cremoso, mas escuro
4	100,6	21,0	3,656	120,0	59,0	caramelizou
5	85,0	16,0	4,076	24,7	32,0	caramelizou
6	90,6	21,0	3,618	82,8	37,6	razoável
7	143,8	20,0	3,723	78,0	32,4	não resultou
8	131,3	20,0	3,826	128,0	> 30,0	razoável
9	110,0	18,4	4,025	157,7	30,4	maior rendimento
10	110,0	24,0	3,440	90,0	37,0	razoável
11	114,2	24,4	3,480	118,3	35,0	razoável
12	111,8	24,2	3,730	102,6	35,0	razoável
13	109,4	23,4	3,435	102,6	37,0	bom
14	110,4	22,4	3,394	94,9	37,0	bom
15	111,8	23,6	3,029	114,1	37,0	bom
16	109,9	23,4	3,025	96,5	39,0	razoável
17	11,7	23,4	3,407	37,5	37,0	razoável
18	112,5	24,6	3,900	125,3	35,0	razoável
19	1170,7	26,2	3,876	1700,0	35,0	bom
20	993,0	20,0	3,209	1227,0	36,0	1ª prova sensorial
21	975,0	20,0	3,120	1056,0	36,0	1ª prova sensorial
22	111,6	23,0	3,334	108,7	36,0	bom
23	136,2	25,0	3,893	172,9	35,0	melhoramento
24	124,1	25,0	3,893	141,7	35,0	melhoramento
25	58,8	23,8	3,664	56,5	35,0	melhoramento
26	57,9	24,2	3,674	70,7	36,0	melhoramento
27	56,4	26,0	3,650	65,2	36,0	melhoramento
28	65,6	26,0	3,650	80,6	35,0	melhoramento
29	340,4	23,4	3,724	449,1	35,0	2ª prova sensorial
30	567,0	24,0	3,626	527,9	35,0	2ª prova sensorial
31	343,7	24,2	3,583	382,2	35,0	2ª prova sensorial
32	409,0	22,6	3,672	429,7	36,0	2ª prova sensorial
33	1590,2	23,2	4,578	1571,0	35,0	= F30
34	1172,4	22,0	3,715	1471,4	36,0	=F32
35	1613,0	22,0	3,686	1416,0	35,0	melhoramento do F30
36	1327,0	23,6	3,730	1146,0	35,0	melhoramento do F30
37	504,0	23,3	3,323	474,0	35,0	melhoramento do F30

n – não determinado

6.3. Resultados das análises físico-químicas ao doce durante o estudo de tempo de vida útil

As análises físico-químicas efetuadas ao doce durante o estudo de tempo de vida útil, foram realizadas de dois em dois meses, de modo a verificar se o doce sofre alguma alteração na sua estabilidade. Apresenta-se de seguida os resultados, ao longo de seis meses, das análises realizadas à textura, atividade da água (a_w), cor, pH, teor de sólidos solúveis (°Brix) e acidez total do doce de medronho.

6.3.1. Resultados das análises de textura

Na análise à textura do doce de medronho, são analisados vários parâmetros após análise de perfil de textura (TPA). O TPA apresenta dois picos que representam a força (pode ser representada em grama, quilograma ou Newtons), que foi aplicada ao penetrar duas vezes no mesmo sítio no mesmo produto. A tabela 14 indica os resultados obtidos da análise à textura do doce com os valores dos diferentes parâmetros.

Tabela 14 – Resultados da avaliação da textura do doce de medronho armazenado a temperaturas de 20 °C e 37 °C ao longo de seis meses.

Código da Amostra	Firmeza (g)	Adesividade (g.s)	Elasticidade	Mastigabilidade	Gomosidade	Coesividade
T0	0,02	-0,09	0,50	1,11	2,23	0,93
T2A	0,03	-0,10	0,69	1,81	2,59	0,90
T2Q	0,03	-0,08	0,65	1,65	2,55	0,91
T4A	3,30	-12,50	0,78	2,31	2,95	0,90
T4Q	2,90	-8,20	0,56	1,48	2,65	0,91
T6A	4,30	-15,10	0,82	3,44	4,20	0,97
T6Q	3,80	-13,20	0,78	2,77	3,53	0,94

Ao longo dos seis meses, a firmeza, a elasticidade, a mastigabilidade, a gomosidade e a coesividade aumentam, de uma forma geral, apresentando algumas oscilações pontuais. A adesividade dos doces diminuiu, de uma forma geral, ao longo dos seis meses de estudo. Os doces armazenados à temperatura ambiente têm valores de adesividade ligeiramente inferiores aos doces armazenados à temperatura de 37 °C, ao longo do tempo. A elasticidade e a mastigabilidade nos doces armazenados à

temperatura de 37 °C diminuem do segundo para o quarto mês. A coesividade diminui do tempo 0 até ao quarto mês, mas quer os doces armazenados à temperatura ambiente, quer os doces armazenados à temperatura de 37 °C apresentam os mesmos valores no segundo e no quarto mês.

Os resultados da textura do doce à temperatura de 37 °C tendem a ser ligeiramente inferiores nos parâmetros da firmeza, da elasticidade, da mastigabilidade, da gomosidade e da coesividade.

6.3.2. Resultados das análises da atividade da água

A atividade da água (a_w) do doce de medronho inicialmente foi cerca de 0,91. A atividade da água foi medida ao longo de seis meses e os seus resultados são apresentados na tabela 15.

Tabela 15 - Resultados da avaliação da atividade da água (média \pm desvio padrão) do doce de medronho a temperaturas de 20 °C e 37 °C ao longo de seis meses.

Código da amostra	a_w
	($\bar{x} \pm dp$)
T0	0,91 \pm 0,001
T2A	0,90 \pm 0,001
T2Q	0,90 \pm 0,001
T4A	0,90 \pm 0,001
T4Q	0,90 \pm 0,001
T6A	0,91 \pm 0,001
T6Q	0,92 \pm 0,001

A atividade da água diminui para 0,90 ao fim de dois meses e mantém-se constante até aos quatro meses, quer nos doces armazenados à temperatura ambiente quer à temperatura de 37 °C. Ao fim de seis meses a atividade da água aumenta para 0,91 nos doces armazenados à temperatura ambiente e para 0,92 nos doces armazenados à temperatura de 37 °C. Estes resultados são congruentes em doces de 35 °Brix.

6.3.3. Resultados das análises da cor

Os resultados das análises à cor do doce de medronho ao longo do tempo e armazenados a temperaturas diferentes, são apresentados na tabela 16, referindo os valores dos parâmetros L^* , a^* , b^* , C e h^* .

Tabela 16 - Resultados da análise da cor do doce de medronho a temperaturas de 20 e 37 °C ao longo de seis meses.

	L^*	a^*	b^*	C	h^*
Código da amostra	$(\bar{x} \pm dp)$				
T0	$33,32 \pm 0,15$	$5,52 \pm 0,89$	$20,73 \pm 0,52$	$21,46 \pm 0,44$	$1,31 \pm 0,01$
T2A	$29,89 \pm 0,04$	$6,35 \pm 0,32$	$19,18 \pm 0,46$	$20,21 \pm 0,35$	$1,25 \pm 0,02$
T2Q	$27,05 \pm 0,05$	$7,25 \pm 0,43$	$16,95 \pm 0,48$	$18,44 \pm 0,30$	$1,17 \pm 0,03$
T4A	$33,10 \pm 0,06$	$6,15 \pm 0,35$	$14,93 \pm 0,15$	$16,15 \pm 0,12$	$1,18 \pm 0,02$
T4Q	$31,27 \pm 0,28$	$6,35 \pm 0,50$	$13,78 \pm 0,44$	$15,19 \pm 0,28$	$1,14 \pm 0,04$
T6A	$30,97 \pm 0,06$	$6,77 \pm 0,12$	$14,07 \pm 0,21$	$15,61 \pm 0,24$	$1,12 \pm 0,00$
T6Q	$30,13 \pm 0,12$	$7,97 \pm 0,42$	$15,17 \pm 0,23$	$17,13 \pm 0,39$	$1,09 \pm 0,01$

Os valores de L^* variam entre 27,05 a 33,32 e diminuem ligeiramente ao longo do tempo. O valor inicial é de 33,32 e ao fim de seis meses o seu valor ronda o valor de 30,13 e o 30,97, para os doces armazenados à temperatura de 37 °C e à temperatura ambiente, respetivamente. O valor de L^* dos doces armazenados à temperatura ambiente é um pouco superior ao dos doces armazenados a 37 °C. Estes valores indicam que os doces ficam ligeiramente mais escuros, sendo que os doces armazenados à temperatura de 37 °C são um pouco mais escuros dos que os doces armazenados à temperatura ambiente.

Os valores de a^* aumentam ao longo do tempo, de cerca de 5,52 para valores aproximadamente de 6,77 e 7,97 dos doces armazenados à temperatura ambiente e à temperatura de 37 °C, respetivamente. Os valores de b^* , C e h^* tendem a diminuir ao longo do tempo. Os valores de b^* do doce de medronho, inicialmente rondam o valor de 20,73. Ao fim de seis meses os valores diminuem para 14,07 e 15,17, referentes aos doces armazenados à temperatura ambiente e à temperatura de 37 °C, respetivamente. Os valores de C inicialmente rondam o valor de 21,46 e ao longo do tempo diminuiu para 15,61 e 17,13 dos doces armazenados à temperatura ambiente e à temperatura de 37 °C, respetivamente. Os valores iniciais de h^* do doce de medronho rondam o valor

de 1,31 e ao longo dos seis meses diminuiu ligeiramente para 1,12 e 1,09 dos doces armazenados à temperatura ambiente e à temperatura de 37 °C, respetivamente.

6.3.4. Resultados das análises do pH

Nas formulações desenvolvidas o pH inicial dos medronhos varia aproximadamente entre 3 e 4, como referido anteriormente na tabela 13. O doce, inicialmente, tem um pH de 3,61. Ao longo de seis meses, o pH varia entre 3,61 no tempo 0 até 3,4 ao fim de seis meses, como se pode ver na figura 8.

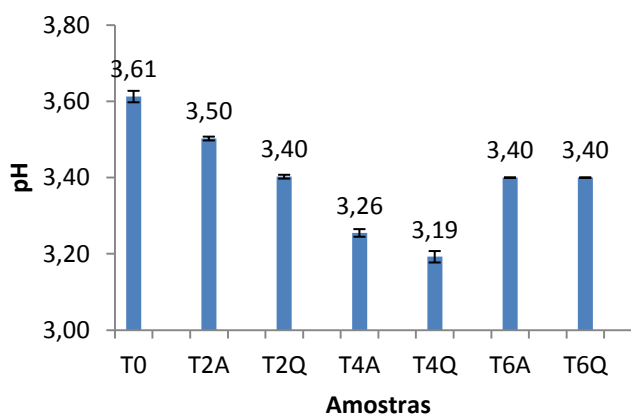


Figura 8 – Resultados da análise do pH (média \pm desvio padrão) do doce de medronho a temperaturas de 20 e 37 °C ao longo de seis meses.

O pH dos doces de medronho ao longo de quatro meses tem tendência a diminuir para valores de pH de 3,26 e 3,19 dos doces armazenados à temperatura ambiente e à temperatura de 37 °C, respetivamente. Os doces armazenados à temperatura de 37 °C têm um pH ligeiramente inferior aos doces armazenados à temperatura ambiente de 20 °C. Do quarto mês para o sexto mês houve um aumento nos valores do pH para 3,4 em ambos os doces.

6.3.5. Resultados dos teores de sólidos solúveis

O teor de sólidos solúveis que se pretende obter no doce final é de aproximadamente 35 °Brix. Nos resultados apresentados na tabela 17, verifica-se que os valores de teor de sólidos solúveis variam entre 36 °Brix a 37 °Brix.

Tabela 17 – Resultados do teor de sólidos solúveis (°Brix, média \pm desvio padrão) do doce de medronho a temperaturas de 20 °C e 37 °C ao longo de seis meses.

Código da amostra	°Brix
	($\bar{x} \pm dp$)
T0	36,5 \pm 0,1
T2A	36,3 \pm 0,1
T2Q	36,5 \pm 0,1
T4A	36,0 \pm 0,1
T4Q	37,0 \pm 0,1
T6A	36,5 \pm 0,0
T6Q	37,0 \pm 0,0

Os valores de teor de sólidos solúveis do doce variam ligeiramente durante os seis meses. Verifica-se que à temperatura ambiente, o teor de sólidos solúveis tende a diminuir ligeiramente de 36,5 °Brix para 36,3 °Brix ao fim de dois meses, ao fim de quatro meses volta a diminuir para 36,0 °Brix e ao fim de seis meses aumenta ligeiramente para 36,5 °Brix. O doce mantido à temperatura de 37 °C aumenta ligeiramente ao fim de quatro meses para 37,0 °Brix e este valor mantém-se constante ao fim de seis meses.

6.3.6. Resultados das análises da acidez total

Os valores de acidez total do doce de medronho ao longo de seis meses variam entre 0,35% a 0,60% de ácido cítrico, como demonstra a figura 9.

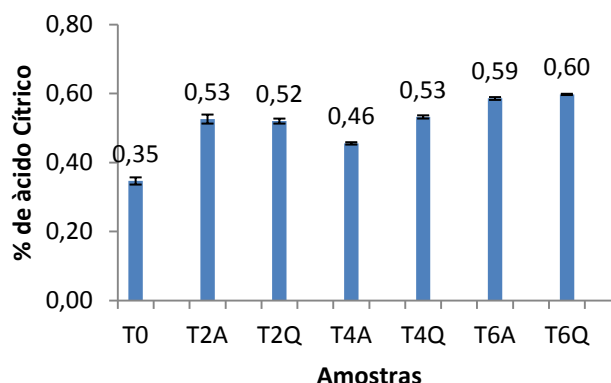


Figura 9 – Resultados das análises da acidez total expressa em ácido cítrico (média \pm desvio padrão) no doce de medronho a temperaturas de 20 °C e 37 °C ao longo de seis meses.

O valor inicial da acidez total, expressa em ácido cítrico, no doce de medronho é cerca de 0,35% expresso em ácido cítrico. Ao longo dos seis meses, a acidez total tende a aumentar para 0,59% e 0,60% nos doces armazenados à temperatura ambiente e à temperatura de 37 °C, respetivamente. Os valores referentes aos doces armazenados à temperatura ambiente aumentam para 0,53% de acidez total ao fim de dois meses, diminuem para 0,46% ao fim de quatro meses e aumentam para 0,59% de acidez total ao fim dos seis meses. Os valores da acidez total dos doces armazenados à temperatura de 37 °C tendem a aumentar para 0,52% ao fim de dois meses, para 0,53% ao fim de quatro meses e para 0,60% de acidez total ao fim dos seis meses. Verifica-se que no quarto e no sexto mês a acidez total nos doces armazenados à temperatura de 37 °C é ligeiramente superior.

6.4. Resultados do controlo microbiológico do doce durante o estudo de tempo de vida útil

Determinou-se o teor de mesófilos aeróbios totais (TAT), de bactérias lácticas (BAL), de bolores e leveduras (BL) e de *Bacillus thermoacidurans* (BTA), no controlo microbiológico dos doces depois de abertos e armazenados à temperatura ambiente (SA), de aproximadamente 20 °C (tabela 18), e armazenados no frio, à temperatura aproximada de 4 °C (SF) (tabela 19), durante cinco semanas.

Tabela 18 – Resultados das análises microbiológicas, durante cinco semanas dos doces abertos armazenados à temperatura ambiente.

	TAT	BAL	BL	BTA
	UFC/g			
SA0	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹
SA1	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹
SA2	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹
SA3	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹
SA4	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹
SA5	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹

Legenda: TAT- teor médio de mesófilos aeróbios totais; BAL - bactérias lácticas;
BL - bolores e leveduras; BTA - *Bacillus thermoacidurans*.

Tabela 19 - Resultados das análises microbiológicas, durante cinco semanas, aos doces abertos armazenados no frio.

	TAT	BAL	BL	BTA
	UFC/g			
SF0	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹
SF1	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹
SF2	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹
SF3	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹
SF4	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹
SF5	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹

Legenda: TAT- teor médio de mesófilos aeróbios totais; BAL - bactérias lácticas;
BL - bolores e leveduras; BTA - *Bacillus thermoacidurans*.

Ao analisar os resultados podemos verificar que ao longo de 5 semanas, quer os doces abertos armazenados à temperatura ambiente, quer armazenados no frio, o resultado do teor de mesófilos aeróbios totais, de bactérias lácticas, de bolores e leveduras e de *Bacillus thermoacidurans* é inferior a 1,0x10¹ UFC/g (perante as normas é o resultado mínimo que pode ser expresso).

Os resultados microbiológicos dos doces fechados e armazenados à temperatura ambiente (TA) e à temperatura de 37 °C (TQ), indicados nas tabelas 20 e 21, respetivamente, mostram o teor médio de mesófilos aeróbios totais, de bactérias lácticas, de bolores e leveduras e de *Bacillus thermoacidurans* durante seis meses.

Tabela 20 – Resultados das análises microbiológicas, durante seis meses aos doces fechados armazenados à temperatura ambiente.

	TAT	BAL	BL	BTA
	UFC/g			
TA0	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$
TA2	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$
TA4	$9,8 \times 10^1$	$3,6 \times 10^2$	$<1,0 \times 10^1$	$6,8 \times 10^1$
TA6	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$

Legenda: TAT- teor médio de mesófilos aeróbios totais; BAL - bactérias lácticas;

BL - bolores e leveduras; BTA - *Bacillus thermoacidurans*.

Tabela 21 - Resultados das análises microbiológicas, durante seis meses, aos doces fechados armazenados à temperatura de 37 °C.

	TAT	BAL	BL	BTA
	UFC/g			
TQ0	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$
TQ2	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$
TQ4	$2,6 \times 10^1$	$4,5 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$
TQ6	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$

Legenda: TAT- teor médio de mesófilos aeróbios totais; BAL - bactérias lácticas;

BL - bolores e leveduras; BTA - *Bacillus thermoacidurans*.

Ao analisar os resultados obtidos constata-se que ao longo de dois meses não houve alterações no teor de mesófilos aeróbios totais, de bactérias lácticas, de bolores e leveduras, nem de *Bacillus thermoacidurans*.

Contudo, ao fim de quatro meses verifica-se alteração nos valores dos teores de mesófilos aeróbios totais, de bactérias lácticas e de *Bacillus thermoacidurans*, nos doces armazenados à temperatura ambiente. Existe também um aumento nos teores de mesófilos aeróbios totais e de bactérias lácticas, nos doces armazenados à temperatura de 37 °C. Os resultados indicam não haver aumento nos teores de bolores e leveduras nos doces em ambas as condições de armazenamento. Tendo o doce um pH baixo e o facto de não ter havido grande alteração do teor de sólidos totais (°Brix) ao longo do tempo, surpreende que o teor de mesófilos aeróbios totais tenha aumentado. O aumento do teor microbiano detetado ao fim de quatro meses não se espelha com as características físico-químicas, dado que as análises de pH, Brix e a_w não apresentam alterações relevantes.

Ao fim de seis meses, pode-se constatar que as análises do quarto mês não estarão corretas e as sementeiras poderão ter sido contaminadas, dado que os resultados obtidos no sexto mês não evidenciaram qualquer desenvolvimento microbiano.

O tempo de estudo irá ser prolongado de modo a acompanhar-se a estabilidade do doce, para se confirmar que o mesmo não apresenta desenvolvimento microbiano, até aos doze meses de tempo de prateleira. Se houver desenvolvimento microbiano e a qualidade do produto for comprometida deverá proceder-se à alteração das metodologias de fabrico.

6.5. Resultados das provas sensoriais

Realizaram-se duas provas sensoriais ao longo do desenvolvimento das formulações do doce de medronho, ambas realizadas na Escola Superior Agrária de Coimbra, de modo a analisar qual a apreciação dos provadores através do teste de preferência bilateral, através de testes de escala hedónica, teste de escala de atitude e, por fim, utilizou-se o teste de ordenação de preferência.

6.5.1. Teste de preferência bilateral

Neste teste verificou-se qual a preferência dos provadores entre dois doces de medronho, um deles continha 20 % das grainhas e o outro 50 % (F20 e F21). Em 40 provadores não treinados, 22 preferiram o doce de medronho com 20% das grainhas e os restantes 18 provadores preferiram o doce com 50% das grainhas. De modo a saber se existe diferença significativa entre os dois doces, analisou-se a tabela do número mínimo (crítico) de respostas corretas para o teste de diferença bilateral com nível de significância de 1 e 5% (anexo VI). Para haver uma diferença significativa entre os dois doces, deveria haver mais de 27 provadores a preferirem um dos doces. Como só houve 22 provadores a preferirem o mesmo doce, não existe diferença significativa para um nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

6.5.2. Testes de escala hedónica, escala de atitude e ordem de preferência

Nesta prova sensorial, 35 provadores não treinados analisaram quatro doces e realizaram testes de escala hedónica em que avaliaram o aspeto visual, o aroma/odor, o sabor, a textura e a apreciação global; teste de escala de atitude de intenção de compra; e por fim um teste de ordenação de preferência, em que os provadores colocaram por

ordem crescente do doce menos preferido ao mais preferido. Um dos doces de medronho tinha as grainhas trituradas (A), outro foi elaborado com polpa e sem grainhas (B), outro com 50% das grainhas, sendo estas trituradas (C), e outro que não continha grainhas (D) (F29, F30, F31 e F32, respetivamente).

Apresentam-se nas figuras 10 a 14 as percentagens de respostas nas avaliações dos 35 provadores não treinados, utilizando escalas hedónicas, para a análise sensorial do doce de medronho em relação aos parâmetros referidos anteriormente.

Perante o histograma dos resultados da análise sensorial do doce de medronho, em relação aos valores hedónicos atribuídos na avaliação do aspeto visual para as quatro amostras (figura 10) verifica-se que as amostras B e D foram as que tiveram maior aceitação. Com os valores 9 (gostei extremamente), 8 (gostei muito) e 7 (gostei moderadamente), a amostra D obteve 37%, 11% e 9% de respostas, respetivamente. Para os mesmos valores da escala hedónica, a amostra B obteve 17%, 57% e 11% das respostas, respetivamente. No total dos valores 9, 8 e 7 da escala hedónica, a amostra D obteve 57% das respostas e a amostra B, obteve 85% das respostas. A amostra B foi a que obteve maior aceitabilidade em relação ao aspeto visual do doce de medronho.

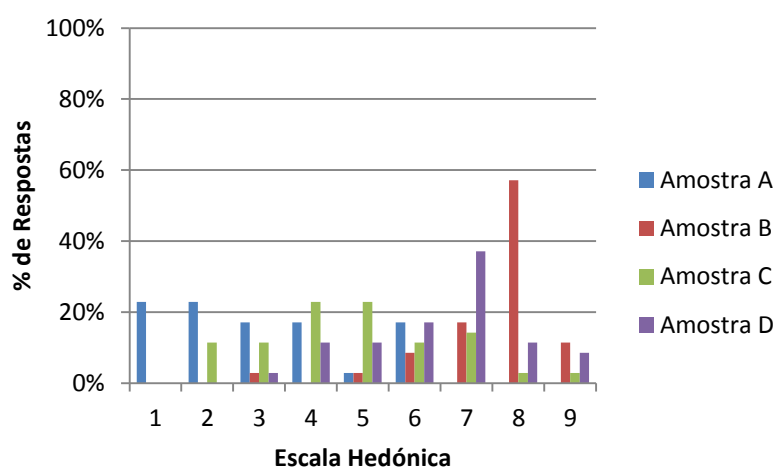


Figura 10 – Histograma dos resultados da análise sensorial do doce de medronho, em relação aos valores hedónicos atribuídos na avaliação do aspeto visual (1 = desgostei extremamente a 9 = gostei extremamente).

A figura 11, referente ao histograma dos resultados da análise sensorial do doce de medronho, em relação aos valores hedónicos atribuídos na avaliação do aroma/odor para as quatro amostras, mostra que as amostras B, C e D foram as que tiveram aceitação semelhante. Com os valores 9 (gostei extremamente), 8 (gostei muito), 7 (gostei moderadamente) e 6 (gostei ligeiramente), a amostra A obteve 17%,

17%, 9% e 3% de respostas, respetivamente. No total dos valores obteve 46% das respostas. A amostra C, para os mesmos valores da escala hedónica, de 6 a 9, obteve 16%, 27%, 20% e 3% das respostas. No total dos valores obteve 66% das respostas. A amostra D, obteve 29%, 17%, 23% e 3% das respostas, na escala de 1 a 6. No total das respostas obteve 72%. A amostra B, que obteve os melhores valores de aceitabilidade em relação ao aroma/odor do doce de medronho, teve 29%, 26%, 20% de respostas na escala de 6 a 8. No total obteve 75% de respostas.

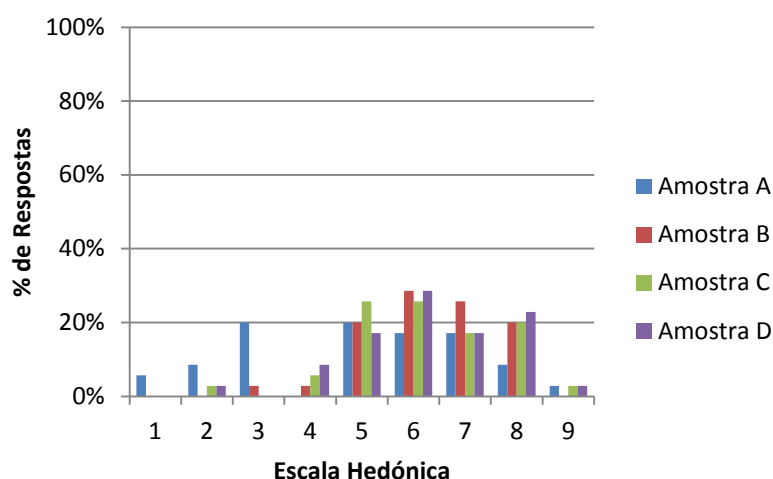


Figura 11 – Histograma dos resultados da análise sensorial do doce de medronho, em relação aos valores hedónicos atribuídos na avaliação do aroma/odor (1 = desgostei extremamente a 9 = gostei extremamente).

Ao observar o histograma dos resultados da análise sensorial do doce de medronho, em relação aos valores hedónicos atribuídos na avaliação do sabor para as quatro amostras (figura 12) verifica-se que as amostras B e D foram as que tiveram maior aceitação. Com os valores 9 (gostei extremamente), 8 (gostei muito) e 7 (gostei moderadamente), a amostra D obteve 26%, 26% e 6% de respostas, respetivamente. Para os mesmos valores da escala hedónica, a amostra B obteve 34%, 37% e 6% das respostas, respetivamente. No total dos valores 9, 8 e 7 da escala hedónica, a amostra D obteve 58% das respostas e a amostra B, obteve 77% das respostas. A amostra B foi a que obteve maior aceitabilidade em relação ao sabor do doce de medronho.

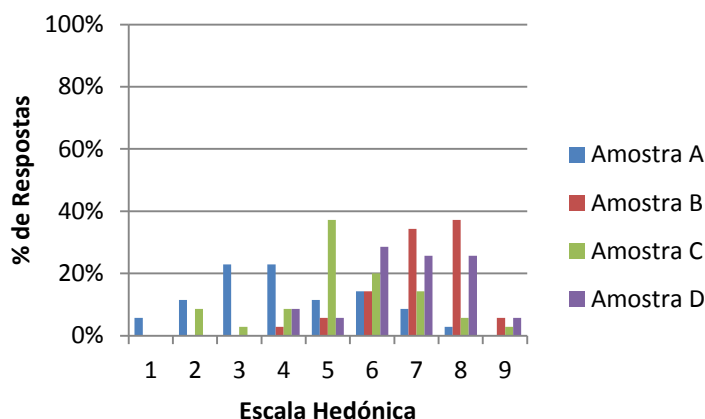


Figura 12 – Histograma dos resultados da análise sensorial do doce de medronho, em relação aos valores hedónicos atribuídos na avaliação do sabor (1 = desgostei extremamente a 9 = gostei extremamente).

De acordo com a figura 13, referente aos resultados da análise sensorial do doce de medronho, em relação aos valores hedónicos atribuídos na avaliação da textura para as quatro amostras, verifica-se que as amostras B e D foram as que tiveram maior percentagem de respostas. Com os valores 9 (gostei extremamente), 8 (gostei muito) e 7 (gostei moderadamente), a amostra D obteve 31%, 27% e 9% de respostas, respetivamente. Para os mesmos valores da escala hedónica, a amostra B obteve 23%, 54% e 3% das respostas, respetivamente. No total dos valores 9, 8 e 7 da escala hedónica, a amostra D obteve 67% das respostas e a amostra B, obteve 80% das respostas. A amostra B foi a que obteve maior aceitabilidade em relação à textura do doce de medronho.

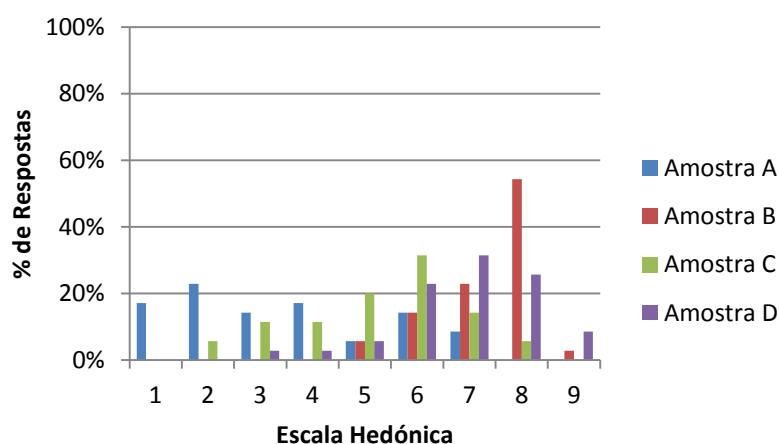


Figura 13 – Histograma dos resultados da análise sensorial do doce de medronho, em relação aos valores hedónicos atribuídos na avaliação da textura (1 = desgostei extremamente a 9 = gostei extremamente).

Ao analisar o histograma (figura 14) referente aos resultados da análise sensorial do doce de medronho, em relação aos valores hedónicos atribuídos na avaliação da apreciação global para as quatro amostras, verifica-se que as amostras B e D foram as que tiveram maior percentagem de respostas. Com os valores 9 (gostei extremamente), 8 (gostei muito) e 7 (gostei moderadamente), a amostra D obteve 37%, 23% e 6% de respostas, respetivamente. Para os mesmos valores da escala hedónica, a amostra B obteve 31%, 49% e 6% das respostas, respetivamente. No total dos valores 9, 8 e 7 da escala hedónica, a amostra D obteve 66% das respostas e a amostra B, obteve 86% das respostas. A amostra B foi a que obteve maior aceitabilidade na apreciação global do doce de medronho.

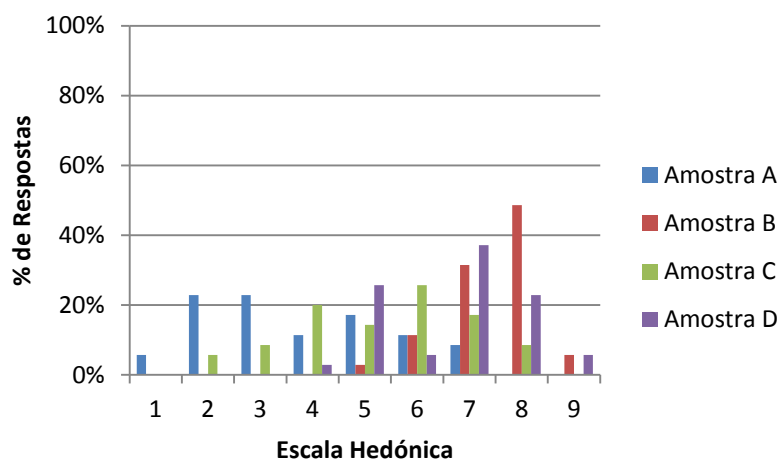


Figura 14 – Histograma da avaliação da apreciação global dos doces de medronho numa escala hedónica de 1 a 9 (desgostei extremamente a gostei extremamente).

Ao observar o histograma da figura 15, referente aos resultados da análise sensorial do doce de medronho, em relação ao teste de escala de atitude de intenção de compra para as quatro amostras, verifica-se que a amostra B foi a que teve maior aceitabilidade. Com os valores 5 (decididamente compraria) e 4 (provavelmente compraria), a amostra D obteve 37% e 23% de respostas, respetivamente. Para os mesmos valores da escala hedónica, a amostra B obteve 49% e 34% das respostas, respetivamente. No total dos valores 5 e 4 da escala hedónica, a amostra D obteve 60% das respostas e a amostra B, obteve 83% das respostas. A amostra B foi a que obteve maior percentagem na avaliação da intenção de compra do doce de medronho.

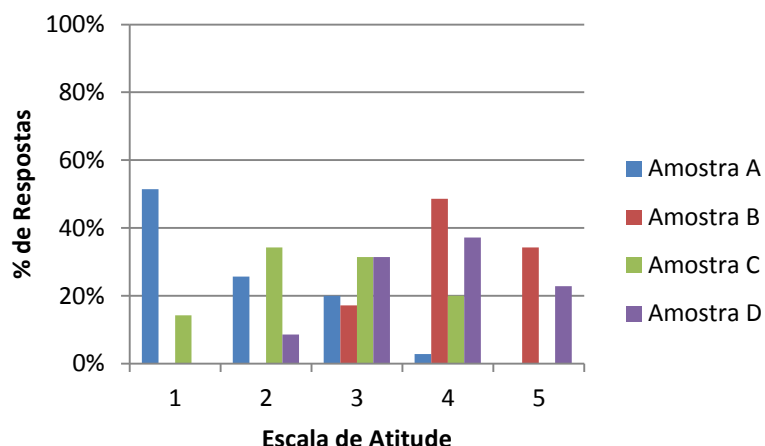


Figura 15 – Histograma dos resultados da análise sensorial do doce de medronho, em relação aos valores da escala de atitude atribuídos na avaliação da intenção de compra (1 = decididamente não compraria a 5 = decididamente compraria).

Analisando todos os parâmetros avaliados, verifica-se que a amostra B foi a que obteve maior índice de aceitabilidade das características referentes ao aspeto visual, aroma/odor, sabor, textura, apreciação global e intenção de compra.

Analisou-se, por fim, a ordem de preferência das quatro amostras de doce. O provador refere por ordem crescente, do que menos preferiu para o que mais preferiu (o doce que o provador dá como preferido tem a cotação de quatro valores e o menos preferido de um valor).

Ao analisar o histograma da figura 16, referente aos resultados da análise sensorial do doce de medronho, em relação à avaliação da ordem de preferência de quatro amostras de doce de medronho, verifica-se que a amostra B foi a que teve maior preferência. Com o valor de 4 (o mais preferido), a amostra B obteve 80% das respostas, sendo portanto, considerado o favorito. Com o valor de 3 (preferido a seguir), a amostra D obteve 66% de respostas. A amostra B foi a que obteve maior percentagem na avaliação de preferência do doce de medronho.

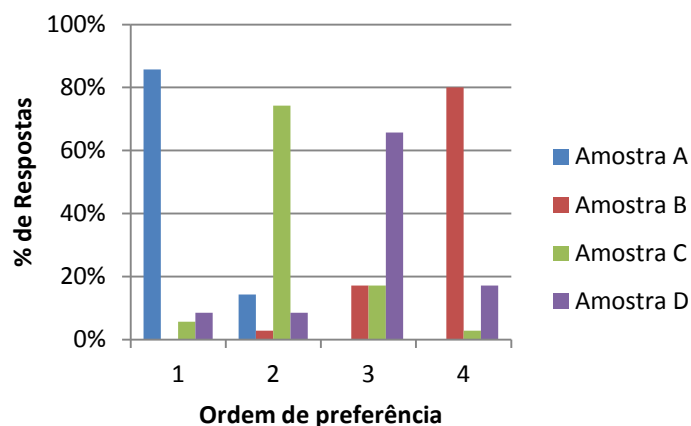


Figura 16 – Histograma dos resultados da análise sensorial do doce de medronho, em relação à avaliação da ordem de preferência dos doces de medronho (sendo o 1 o menos preferido e o 4 o mais preferido).

Para a análise estatística dos resultados da prova de ordenação, o método mais eficiente é o teste de Friedman (Fr). Calcula-se o valor de Friedman (Fr), utilizando a seguinte fórmula:

$$Fr = \frac{12}{n \times k \times (k+1)} \sum_{j=1}^k R_j^2 - 3 \times n \times (k+1), \text{ onde } n \text{ representa o número de}$$

provadores, k representa o número de amostras e R_j representa a soma das ordens para o produto j (1, 2, ..., k).

Na prova sensorial estiveram presentes 35 provadores (n) e houve quatro amostras (k), das quais obteve-se os cálculos auxiliares para a determinação de Fr, apresentados na tabela 22.

Tabela 22 – Cálculos auxiliares para determinação do valor de Friedman

Provadores	Amostras				Soma da Ordem
	A	B	C	D	
1	1	4	2	3	10
2	1	4	2	3	10
...
34	1	4	3	2	10
35	1	2	3	4	10
R	40	132	76	102	350
R²	1600	17424	5776	10404	35204

Com os valores apresentados anteriormente, pode-se calcular o valor de Friedman utilizando a equação acima referida.

$$Fr = \frac{12}{35 \times 4 \times (4+1)} 35204 - 3 \times 35 \times (4+1) = 78,49$$

O valor de Fr agora calculado deverá ser comparado com os valores críticos para a análise de variância por número de ordem de Friedman (adaptado de Siegel e Castellan, 1988). Se o valor for superior ao valor tabelado, para um dado número de amostras, provadores e nível de significância escolhido, significa que se pode concluir que existe diferença significativa entre as amostras.

Para um número de amostras $k = 4$, para um número de provadores $n = 35$ e para os três níveis de significância (1%, 5% e 10%), obtêm-se os valores críticos para a análise de variância de ordem de Friedman apresentados na tabela 23.

Tabela 23 – Valores críticos para a análise de variância por número de ordem de Friedman para o estudo (adaptado de Siegel e Castellan, 1988)

$\alpha \leq 0,1$	$\alpha \leq 0,05$	$\alpha \leq 0,01$
6,25	7,82	11,34

Fonte: Noronha, 2003

Dado que o valor calculado de Fr é igual a 78,49 e é superior aos valores tabelados, podemos concluir que existem diferenças entre as amostras a estes níveis de significância. O maior valor tabelado é de 11,34 e como Fr calculado é superior a este valor, conclui-se que existe diferença entre as amostras, para um nível de significância de 1% ($p \leq 0,01$).

Nos casos em que se demonstra estatisticamente, utilizando o método de Friedman, que existe diferença significativa entre as amostras, poderá ser útil saber se existe diferença significativa entre as amostras individualmente. O teste de Friedman só indica se as amostras (todas) são ou não, estatisticamente diferentes. Considerando quaisquer duas amostra i e j e as suas somas de ordem R_i e R_j , podemos dizer, segundo a Norma ISO 8587:1988, que as amostras são significativamente diferentes se:

$$[R_i - R_j] \geq 2,576 \sqrt{\frac{n \times k \times (k+1)}{6}}, \text{ para um nível de significância de 1\%.}$$

Considerando os valores $n = 35$ e $k = 4$, $[R_i - R_j] \geq 27,82$.

Efetando os cálculos através da tabela 22, apresenta-se na tabela 24, todas as diferenças possíveis entre as somas de ordem das amostras A a D.

Tabela 24 – Diferenças nas somas de ordem observadas entre as diversas amostras em estudo

Amostras		Diferenças	Observações
A	B	$ 40 - 132 = 92 > 27,82$	Há diferença
A	C	$ 40 - 76 = 36 > 27,82$	Há diferença
A	D	$ 40 - 102 = 62 > 27,82$	Há diferença
B	C	$ 132 - 76 = 56 > 27,82$	Há diferença
B	D	$ 132 - 102 = 30 > 27,82$	Há diferença
C	D	$ 76 - 102 = 26 < 27,82$	Não há diferença

Verifica-se através dos resultados obtidos, que existem diferenças entre as amostras A e B, A e C, A e D, B e C e por fim B e D. Estas amostras são diferentes entre si. As amostras C e D não são distinguíveis entre si.

6.6. Resultados das análises nutricionais

Depois de analisar vários artigos científicos, pode-se verificar através destes e dos resultados das análises nutricionais que os medronhos são ricos em minerais, como o potássio, o cálcio e o magnésio. Também contém nos seus constituintes β -caroteno, vitamina C, B₃, E e A. A composição nutricional do medronho é apresentada na tabela 25, com dados de outros autores e na tabela 26, com os dados referentes aos valores nutricionais do doce de medronho.

Os valores apresentados referem que os medronhos em estudo possuem 423 kJ/100g (101 kcal/100g) de energia. Os resultados referentes aos hidratos de carbono são de 19,3 g/100g, dos quais 9,77g/100g são de frutose, 5,54 g/100g de glucose e valores inferiores a 0,10 g/100g de sacarose, lactose, galactose e maltose. Contém na sua constituição fibra alimentar na razão de 11,9 g/100g.

Comparando os resultados obtidos por Ruiz-Rodriguez *et al.* (tabela 25) verifica-se que são concordantes com os alcançados no presente estudo.

Tabela 25 – Valores de determinados constituintes do medronho em estudo e de outros autores.

	No estudo	Ruiz-Rodriguez <i>et al.</i> , 2011 (Espanha)	Barros <i>et al.</i> , 2010 (Trás-os-Montes) /g peso seco	Gomes, 2006 (Algarve) /g peso seco	Alarcão-e-Silva <i>et al.</i> , 2001 (Lisboa)	Özcan e Haciseferoğulları 2007 (Turquia)
Energia calculada (kJ/100g)	423					
Energia calculada (kcal/100g)	101	101	399,9 ± 1,17			327 ± 13,00
Hidratos de Carbono (g/100g)	19,30	23,55	93,83 ± 0,41			
Dos quais açúcares: (g/100g)						
Frutose	9,77	10,36	24,21 ± 1,46		20,8 ± 0,2	
Glucose	5,54	5,51	12,14 ± 0,26		12,5 ± 0,3	
Sacarose	<0,10	0,41	4,20 ± 0,04		8,68 ± 0,03	
Lactose	<0,10					
Galactose	<0,10					
Maltose	<0,10					
Humidade (g/100g)	68,80	56,48	59,70 ± 2,67			53,72 ± 2,10
Proteína (g/100g)	<1,00	0,89	3,09 ± 0,08			3,36 ± 0,12
Gordura (g/100g)	<1,00	0,61	1,37 ± 0,40			2,1 ± 0,10
Cinzas (g/100g)	<1,00	0,86	1,71 ± 0,09			2,824 ± 0,12
Ac. Gordos saturados (g/100g)	<0,02					
Sal (g/100g)	0,03					
Sódio (g/100g)	0,01	0,0075		0,1032		0,07
Fibra alimentar total (g/100g)	11,90	16,21				6,4 ± 1,10
Cálcio (mg/kg)	283,00	665,4		1665		4959,02 ± 150
Ferro (mg/kg)	3,90	8,85				12,15 ± 1,11
Fósforo (mg/kg)	0,03					3668,56 ± 339,69
Magnésio (mg/kg)	151,20	196,2		327		1315,57 ± 129,19
Potássio (mg/kg)	1554,40	1773		1241		14909,08 ± 1687
Vitamina A (µg/100 g)	295,00					
Vitamina B3 (mg/100g)	4,41				9,1 ± 0,6	
Vitamina C (ou Ácido Ascórbico) (mg/100g)	8,20	182,4	15,07 ± 0,77		346 ± 7	
Vitamina E (mg/100g)	1,52		21,98 ± 0,18			
Betacaroteno (mg/100g)	8,50	0,52	1,07 ± 0,09		70,9 ± 5,2	

Os teores dos constituintes do doce de medronho em comparação com o fruto (tabela 26), variam nalguns constituintes. Os valores no fruto e no doce de medronho referentes às proteínas, às gorduras e às cinzas são inferiores a 1,00g/100g; aos ácidos gordos saturados são inferiores a 0,02g/100g; e a alguns açúcares como a lactose, a galactose e a maltose são inferiores a 0,10g/100g. Para estes constituintes, a sua composição é inferior ao limite de deteção do respetivo método de análise. Em relação às proteínas e lípidos (gorduras), o doce de medronho desenvolvido neste trabalho contém valores inferiores a 1,00g/100g, o que equivale aos valores existentes no mercado para produtos semelhantes.

O teor de constituintes do doce de medronho que são inferiores aos do próprio fruto antes do processo de transformação são a humidade, que passou de 68,8 g/100g a 62,2g/100g; a fibra, que passou de 11,90 g/100g a 2,60 g/100g; o cálcio, que passou de 283 mg/kg a 203 mg/kg; o ferro, que passou de 3,90 mg/kg a 3,10 mg/kg; o magnésio, que passou de 151,2 mg/kg a 92,2 mg/kg; e o potássio, que passou de 1554,40 mg/kg a 522,60 mg/kg. A vitamina A também diminuiu de 295 µg/100g no medronho para 38 µg/100g no doce; a vitamina B3 de 4,41 mg/100g para 1,23 mg/100g; a vitamina E de 1,52 mg/100g para 0,37 mg/100g e o betacaroteno também diminuiu de 8,50 mg/100g nos medronhos para 4,10 mg/100g no doce.

Os resultados da energia calculada no doce de medronho são claramente superiores aos dos medronhos, passando de 423 kJ/100g (101 kcal/100g) a 619 kJ/100g (146 kcal/100g). A vitamina C também aumenta o seu valor de 8,20 mg/100g de medronhos para 13,30 mg/100g de doce. O sal aumenta de 0,03 g/100g de medronhos para 0,13 g/100g de doce e o sódio passa de 0,01 g/100g para 0,05g/100g. O fósforo tem um ligeiro aumento de 0,03 g/100g de medronhos para 0,04 g/100g de doce. Os teores dos hidratos de carbono, normalmente e como tudo indicaria, tendem a aumentar do fruto para o doce. Estes valores passaram de 19,30 g/100g de medronhos para 35,20 g/100g de doce. Assim sendo, os valores de frutose passam de 9,77g/100g a 16,62g/100g, a glucose passa de 5,54 g/100g a 13,27 g/100g e a sacarose passam de inferior a 0,10 g/100g a 0,11 g/100g.

Tabela 26 – Resultados das análises nutricionais aos medronhos e ao doce de medronho.

	Medronho	Doce de Medronho	
Análises	Resultados		Unidades
Energia calculada	423(101)	619(146)	kJ/100g (kcal/100g)
Hidratos de Carbono	19,30	35,20	%
Dos quais açúcares:			
Frutose	9,77	16,62	%
Glucose	5,54	13,27	%
Sacarose	<0,10	0,11	%
Lactose	<0,10	<0,10	%
Galactose	<0,10	<0,10	%
Maltose	<0,10	<0,10	%
Humidade	68,80	62,20	%
Proteína	<1,00	<1,00	%
Gordura	<1,00	<1,00	%
Cinzas	<1,00	<1,00	%
Ác. Gordos saturados	<0,02	<0,02	g/100g
Sal	0,03	0,13	g/100g
Sódio	0,01	0,05	g/100g
Fibra alimentar total	11,90	2,60	%
Cálcio	283	203	mg/kg
Ferro	3,90	3,10	mg/kg
Fósforo	0,03	0,04	%
Magnésio	151,20	92,20	mg/kg
Potássio	1554,40	522,60	mg/kg
Vitamina A	295,00	38,00	µg/100 g
Vitamina B3	4,41	1,23	mg/100g
Vitamina C (Acido Ascórbico)	8,20	13,30	mg/100g
Vitamina E	1,52	0,37	mg/100g
Betacaroteno	8,50	4,10	mg/100g

A tabela 27 indica alguns doces existentes no mercado e os seus valores nutricionais, de modo a analisar e comparar com os valores nutricionais do doce de medronho produzido neste estudo.

Tabela 27 - Valores nutricionais de doces existentes no mercado

Doce	Marca	Menções	Energia (kcal/100g)	Energia (kJ/100g)	Hidratos de Carbono (g/100g)	Açúcares Totais (g/100g)
Morangos	St. Dalfour	Sem adição de açúcar Apenas fruta totalmente natural	208,0	884,0	52,0	52,0
Cerejas pretas	St. Dalfour	Sem adição de açúcar Apenas fruta totalmente natural	208,0	884,0	52,0	52,0
Framboesas	St. Dalfour	Sem adição de açúcar Apenas fruta totalmente natural	224,0	950,0	56,0	56,0
Quatro frutos	St. Dalfour	Sem adição de açúcar Apenas fruta totalmente natural	208,0	884,0	52,0	52,0
Laranjas com farripas	St. Dalfour	Sem adição de açúcar Apenas fruta totalmente natural	208,0	884,0	52,0	52,0
Arandos e mirtilos	St. Dalfour	Sem adição de açúcar Apenas fruta totalmente natural	208,0	884,0	52,0	52,0
Pêssegos dourados	St. Dalfour	Sem adição de açúcar Apenas fruta totalmente natural	208,0	884,0	52,0	52,0
4 frutos	Pingo doce	Sem adição de açúcar	226,0	957,0	54,0	50,2
Framboesa	Pingo doce	Sem adição de açúcar	224,0	952,0	54,0	47,6
Pêssego	Pingo doce	Sem adição de açúcar	221,0	938,0	54,0	49,3
Morango	Pingo doce	Sem adição de açúcar	222,0	941,0	54,0	50,3

Tabela 27 - Valores nutricionais de doces existentes no mercado (continuação).

Doce	Marca	Menções	Energia (kcal/100g)	Energia (kJ/100g)	Hidratos de Carbono (g/100g)	Açúcares Totais (g/100g)
Cereja	Pingo doce	Sem adição de açúcar	221,0	937,0	54,0	51,4
Pêssego	Equilíbrio Continente	Light - 30% de açúcares	172,0	729,0	42,0	42,0
Cereja	Equilíbrio Continente	Light - 30% de açúcares	172,0	730,0	42,0	42,0
Frutos vermelhos	Equilíbrio Continente	Light - 30% de açúcares	174,0	741,0	42,0	42,0
Morango	Equilíbrio Continente	Light - 30% de açúcares	174,0	740,0	42,0	42,0
Tomate	Equilíbrio Continente	Light - 30% de açúcares	173,0	733,0	42,0	42,0
Doce de Tomate	Área Viva Continente	Com frutose	163,0	694,0	40,0	40,0
Doce de Morango	Área Viva Continente	Com frutose	164,0	696,0	40,0	40,0
Doce de Maçã	Área Viva Continente	Com frutose	165,0	699,0	40,0	40,0
Doce de Frutos Silvestres	Área Viva Continente	Com frutose	168,0	713,0	40,0	40,0
Doce de Pêssego	Área Viva Continente	Com frutose	163,0	691,0	40,0	40,0

Tabela 27 - Valores nutricionais de doces existentes no mercado (continuação).

Doce	Marca	Menções	Energia (kcal/100g)	Energia (kJ/100g)	Hidratos de Carbono (g/100g)	Açúcares Totais (g/100g)
Marmelada	Área Viva Continente	Com frutose	908,0	214,0	52,0	51,6
Maçã	Casa de Mateus	Light -30% de açúcares	173,0	736,0	42,0	39,0
Framboesa	Casa de Mateus	Light -30% de açúcares	177,0	751,0	43,0	42,0
Morango	Casa de Mateus	Light -30% de açúcares	174,0	738,0	42,0	36,0
Mirtilos	Prisca Nature	Sem adição de açúcar	223,0	935,0	54,0	26,96
Pêssego	Prisca Nature	Apenas com açúcares provenientes da fruta	224,8	940,6	54,0	49,3
Frutos vermelhos	Prisca Nature	Sem adição de açúcares	228,5	956,0	54,0	45,9
Morango	Prisca Nature	Apenas com açúcares provenientes da fruta	224,7	940,4	54,0	50,3
Tomate	Prisca Nature	Sem adição de açúcar	223,8	936,4	54,0	24,23

Tabela 27 - Valores nutricionais de doces existentes no mercado (continuação).

Doce	Marca	Menções	Energia (kcal/100g)	Energia (kJ/100g)	Hidratos de Carbono (g/100g)	Açúcares Totais (g/100g)
Ameixa	Prisca Nature e Prisca tradicional – Vida Saudável	Com sumo concentrado de uva	222,8	932,4	54,0	*
Abóbora	Prisca Gourmet e Nature	Sem adição de açúcar	221,8	928,0	54,0	*
Alperce	Prisca Gourmet	Sem adição de açúcar	211,0	883,0	55,0	*
Cereja	Prisca tradicional – Vida Saudável	Com sumo concentrado de uva	210,2	879,3	54,0	*
Figo	Prisca Gourmet	Sem adição de açúcar	213,2	892,0	55,0	*
Figo	Prisca tradicional – Vida Saudável	Com sumo concentrado de uva	226,1	946,0	54,0	*
Framboesa	Prisca Nature e Prisca tradicional – Vida Saudável	Com sumo concentrado de uva	209,9	878,2	54,0	*
Frutos tropicais	Prisca Gourmet e Nature	Sem adição de açúcar	222,3	930,0	54,0	*

* valor não referenciado

Tabela 27 - Valores nutricionais de doces existentes no mercado (continuação).

Doce	Marca	Menções	Energia (kcal/100g)	Energia (kJ/100g)	Hidratos de Carbono (g/100g)	Açúcares Totais (g/100g)
Frutos vermelhos	Prisca Gourmet e Nature	Sem adição de açúcar	228,5	956,0	54,0	*
Laranja	Prisca Gourmet	Sem adição de açúcar	212,2	887,9	55,0	*
Morango	Prisca Gourmet e Nature	Sem adição de açúcar	224,7	940,0	54,0	*
Pêssego	Prisca Nature	Sem adição de açúcar	224,9	941,0	54,0	*
Tomate	Prisca Gourmet e Nature	Sem adição de açúcar	223,7	936,0	54,0	*
Frutos vermelhos	Diese	Sem adição de açúcar	131,1	548,5	31,0	*
Doce de Ginja	Diese	Tolerado por diabéticos	131,0	558,4	31,5	27,5
Doce de Frutos Vermelhos	Diese	Tolerado por diabéticos	132,5	553,7	30,8	28,2
Doce de Cenoura com Laranja	Diese	Tolerado por diabéticos	126,5	536,8	30,1	26,3

* valor não referenciado

Tabela 27 - Valores nutricionais de doces existentes no mercado (continuação).

Doce	Marca	Menções	Energia (kcal/100g)	Energia (kJ/100g)	Hidratos de Carbono (g/100g)	Açúcares Totais (g/100g)
Doce de Manga, Goji e Chá Verde	Diese	Teor de açúcar reduzido	134,3	570,0	32,0	31,9
Marmelada	Diese	Teor de açúcares reduzido Tolerada por diabéticos	167,4	699,0	40,4	36,5
Doce de Ananás	Cem Porcento Produtos Naturais	Sem adição de açúcares Açúcares provenientes do ananás Adequado para diabéticos	146,0	614,0	44,2	9,5 (27,5 polióis)
Doce de Marmelo	Cem Porcento Produtos Naturais	Sem adição de açúcares 100% produtos naturais	143,0	599,0	42,2	8,0 (25 polióis)
Doce de Morango	Salutem – Saúde e Bem Estar	Menos calorias Com frutose	209,9	916,0	46,9	40,0 (32g frutose)
Doce de Morango	Seara	Com geleia de milho Sem açúcar (sacarose)	249,0	1400,0	60,0	37,0
Doce de Tomate	Seara	Com geleia de milho Sem açúcar (sacarose)	245,0	1070,0	62,0	42,4
Doce de Mirtilo e Framboesa	Seara	Com geleia de milho Sem açúcar (sacarose)	222,0	948,0	52,4	31,7

Os teores dos hidratos de carbono referentes aos doces sem açúcar disponíveis no mercado, variam entre 30 g e 62 g por 100 gramas de doce.

Destacam-se os doces da Diese com os valores de energia e hidratos de carbono mais baixos do mercado, um dos quais indica que contém 30,1 g de hidratos de carbono por 100 gramas de doce, que representa em energia 126,5 kcal/100g (536,8 kJ/100g).

Os produtos da marca Cem Porcento Produtos Naturais, têm valores de energia de 143 kcal/100g (599 kJ/100g) e 146 kcal/100g (614 kJ/100g). Estes valores são ligeiramente inferiores aos do doce de medronho. Contudo, os teores dos hidratos de carbono são de 42,2g/100g e 44,2 g/100g, que são valores superiores aos do doce de medronho.

Os doces da Casa Mateus indicam valores de energia de 173 kcal/100g (736 kJ/100g) e 177 kcal/100g (751 kJ/100g). Os teores de hidratos de carbono são de 42 g/100g e 43 g/100g. Os doces da marca Equilíbrio Continente referem valores de energia de 172 kcal/100g (729 kJ/100g) e 174 kcal/100g (741 kJ/100g), e, refere também que contém 42 g/100g de hidratos de carbono. A marca Área Viva Continente apresenta na constituição dos seus doces a energia de 163 kcal/100g (691 kJ/100g) e 168 kcal/100g (713 kJ/100g), e indica que contém 40 g/100g de hidratos de carbono. Estes valores são superiores mas próximos do doce de medronho.

Ao comparar o doce de medronho com outros doces sem adição de açúcar existentes no mercado, verifica-se que o doce de medronho tem valores de energia relativamente baixos. O doce de medronho tem 619 kJ/100g (146 kcal/100g) de energia. O doce de medronho desenvolvido tem 35,2 g de hidratos de carbono por 100 gramas de doce e dos quais representam cerca de 30 g de açúcares totais, o que demonstra possuir teores de energia, hidratos de carbono e açúcares totais mais baixos quando comparado com alguns dos doces sem adição de açúcar presentes no mercado.

7. Conclusão

O desenvolvimento da formulação do doce de medronho sem adição de açúcar (sacarose) foi um trabalho bastante interessante e que culminou na conceção de um produto inovador e diferenciado de todos os que existem atualmente no mercado nacional.

Ao desenvolver o doce de medronho pretendeu-se contribuir com mais uma solução para os produtores de medronho da região Centro do País conseguirem escoar o seu produto e valorizar os recursos endógenos.

No total, realizaram-se 37 formulações procurando um novo produto que satisfaça as necessidades de potenciais consumidores em regime de restrição de consumo de açúcares, com as características sensoriais idênticas às de um doce comercial convencional.

A última formulação, depois de melhorada, foi bem aceite em prova sensorial, por provadores não treinados. O doce final não tem grainhas, tem um sabor doce apreciado positivamente e tem uma textura cremosa.

Ao realizar as análises físico-químicas e microbiológicas do doce melhorado, ao longo de seis meses, verificou-se não haver alterações na estabilidade do doce que pudessem comprometer o seu tempo de vida útil. Contudo, só com o prolongamento do tempo de estudo de vida útil do produto, que irá realizar-se até aos doze meses, será possível avaliar-se a evolução da estabilidade físico-química e microbiológica. No caso de, no final dos 12 meses, se verificar o comprometimento da qualidade do doce, existem soluções que podem passar pela realização de um processo de pasteurização dos doces depois de embalados e fechados nos frascos.

Ao comparar o doce de medronho com outros doces sem adição de açúcar existentes no mercado, verifica-se que o doce de medronho melhorado tem valores de energia e de hidratos de carbono reduzidos. O doce de medronho equivale a 619 kJ (146 kcal) de energia por 100 gramas de produto e contém, na sua composição, 35,2 g de hidratos de carbono por 100 gramas de doce, dos quais representam cerca de 30 g de açúcares totais, o que demonstra possuir valores baixos em comparação com 51 doces sem adição de açúcar presentes no mercado, de um total de 56 doces.

O doce de medronho desenvolvido inova pela combinação entre o seu teor reduzido de açúcares, similar a produtos idênticos que se encontram no mercado, e pela introdução de um edulcorante natural extraído da planta *Stevia reubadiana* Bertoni, que

lhe confere um sabor doce bem aceite por potenciais consumidores. Neste contexto, a formulação de doce de medronho reúne condições de qualidade sensorial, físico-química e microbiológica que lhe permitirá colmatar uma falha de mercado no que respeita à oferta de doces para consumidores diabéticos e consumidores com problemas de excesso de peso/obesidade.

8. Bibliografia

Abou-Arab, A., Abou-Arab, A., & Abu-Salem, M. F., 2010. Physico-chemical assessment of natural sweeteners steviosides produced from *Stevia rebaudiana* Bertoni plant. African Journal of Food Science, 4, 269–281.

Afkir, S., Nguelefack, T.B., Aziz, M., Zoheir, J., Cuisinaud, G., Bnouham, M., Mekhfi, H., Legssyer, A., Lahlou, S., Ziyat, A., 2008. Arbutus unedo prevents cardiovascular and morphological alterations in L-NAME-induced hypertensive rats. Part I: cardiovascular and renal hemodynamic effects of Arbutus unedo in L-NAME-induced hypertensive rats. J. Ethnopharmacol. 116, 288–295.

Akashi, H., and Yokoyama, Y., 1975. Dried-leaf extracts of stevia, toxicological test. Shokuhin Kogyo 18: 34-43.

Alarcão-e-Silva, M., Leitão, A.E.B., Azinheira, H.G., Leitão, M.C.A., 2001. The Arbutus Berry: Studies on its color and chemical characteristics at two mature stages. J. Food Compos. Anal. 14, 27–35.

Amorim Cruz JA, Moreiras O, Brzozowska A. Longitudinal changes in the intake of vitamins and minerals of elderly Europeans. SENECA investigators. Eur J Clin Nutr 1996 Jul; 50 Suppl. 2: S77-85

Amzad-Hossain, M., Siddique, A., Mizanur-Rahman, S., & Amzad-Hossain, M. (2010). Chemical composition of the essential oils of *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. Asian Journal of Traditional Medicines, 5, 56–61.

Anthony S. Fauci EB, Dennis L. Kasper, Stephen L. Hauser, Dan L. Longo, J. Larry Jameson, Joseph Loscalzo, 2008. Harrison's Principles of Internal Medicine. Seventeenth ed.: The McGraw-Hill Companies, Inc.

Anton, S., Martin, C., Han, H., Coulon, S., Cefalu, W., Geiselman, P., 2010. Effects of Stevia, aspartame, and sucrose on food intake, satiety and postprandial glucose and insulin levels. Appetite, 55, 37–43.

Araújo, J. M. A., 1999. Química de alimentos: teoria e prática. 2 ed., Viçosa: UFV, 416p.

Atteh, J., Onagbesan, O., Tona, K., Decuypere, E., Geuns, J., & Buyse, J., 2008. Evaluation of supplementary Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) leaves and stevioside in broiler diets: Effects on feed intake, nutrient metabolism, blood parameters and growth performance. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 92, 640–649."

Ayaz, F. A., Kucukislamoglu, M., & Reunanen, M., 2000. Sugar, non-volatile and phenolic acids composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L. var. *ellipsoidea*) fruits. Journal Food Composition and Analysis, 13, 171–177.

Barrera, A.M.; Ramírez, J.A.; González-Cabriales, J.J.; Vázquez, M., 2002. Effect of pectins on the gelling properties of surimi from silver carp. Food Hydrocolloids, v.16, p.441-447.

Barriocanal, L., Palacios, M., Benitez, G., Benitez, S., Jimenez, J., Jimenez, N., et al, 2008. Apparent lack of pharmacological effect of steviol glycosides used as

sweeteners in humans, a pilot study of repeated exposures in some normotensive and hypotensive individuals and in type 1 and type 2 diabetics. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 51, pp. 37–41.

Barros, L., Carvalho, A. M., Morais, J. S., & Ferreira, I. C. F. R., 2010. Strawberry-tree, blackthorn and rose fruits: Detailed characterisation in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties. *Food Chemistry*, 120(1), 247–254.

Baruffaldi, R., 1991. Tecnologia de alimentos dietéticos. In: Baruffaldi, R.; Stabile, M. Tecnologia de alimentos dietéticos: edulcorantes, São Paulo: EDUSP p. 1-19.

Bates, R. P.; Morris, J. R.; Crandall, P. G. 2001. Principles and practices of small- and medium-scale fruit juice processing. Food Science and Human Nutrition Department, University of Florida, United States. FAO Agricultural Services Bulletin, 146. FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. ISBN 92-5-104661-1.

Batista, M.T., Amaral, M.T., Proenca Da Cunha, A., 1996. Carob fruits as source of natural oxidants. In: Proceedings of the Communication in Third International Carob Symposium, Tavira, Portugal, June, pp. 19–23.

Batlle, L e Tous, J., 1990. Cultivares autóctonos de algarrobo (*Ceratonia siliqua* L.). *Cataluña, Investigación Agraria*. 5(2):223-238.

Baytop, T., 1984. Treatment with plants in Turkey. *Ystanbul Univ. Publ. No. 3255*, Ystanbul (in Turkish).

Bessesen DH. Update on obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008 Jun;93(6):2027-34.

Bharani, A., Ganguly, A., & Bhargava, K., 1995. Salutory effect of *Terminalia arjuna* in patients with severe refractory heart failure. *International Journal of Cardiology*, 49, 191–199.

Billmeyer, J. F. W. e Satzman, M., 1981. Principles of colour technology. New York: John Wiley, p. 240.

Blauth de Slavutzky, S., 2010. Stevia and sucrose effect on plaque formation. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 5, 213–216."

Bnouham, M., Merhfour, F.Z., Ziyat, A., Aziz, M., Legssyer, A., Mekhfi, H., 2010. Antidiabetic effect of some medicinal plants of Oriental Morocco in neonatal non insulin-dependent diabetes mellitus rats. *Hum. Exp. Toxicol*. 29, 865–871.

Bobbio; P., Bobbio, F., 2001. Química do processamento de alimentos. 3a ed. São Paulo: Livraria Varela.

Bobbio, F.O.; Bobbio, P.A., 2003a. Manual de laboratório de química de alimentos. São Paulo: Livraria Varela, 63-64p.

Bobbio; P., Bobbio, F., 2003b. Introdução à química de alimentos. 3ª ed. São Paulo: Livraria Varela.

Bowers, J., 1992. Food Theory and Applications. 2nd Edition. New York: Macmillan Publishing Company, 411p.

Brandle, J., Telmer, P. Steviol glycoside biosynthesis. *Phytochemistry*, 68, 2007, pp. 1855–1863.

Braz de Oliveira, A. J., Correia Gonçalves, R. A., Cantuaria Chierito, T. P., Müller dos Santos, M., Mera de Souza, L., Gorin, P. A. J., 2011. Structure and degree of polymerisation of fructooligosaccharides present in roots and leaves of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Berton. *Food Chemistry*, 129, 305–311.

Buyukokuroglu, M., Gulcin, I., Oktay, M., & Kufrevioglu, O., 2001. In vitro antioxidant properties of dantrolene sodium. *Pharmacological Research*, 44, 491–494.

Camargos, J.A.A.; Gonzalez, J.C., 2001. A colorimetria aplicada como instrumento na elaboração de uma tabela de cores de madeira. *Brasil Florestal*, n.71, p.30-41.

Campos, A. M., 1993. Efeito de adoçantes e edulcorantes na formulação de geléias de fruta com pectina amidada. Mestrado em Tecnologia Química. Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 166 p.

Campos, A. M., Cândido, L. M. B., 1994. Comportamento de géis de pectinas amidadas em presença de diferentes adoçantes e teores variados de cálcio. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*. Curitiba, v. 12, n. 1, p. 39-54.

Campos, A., Cândido, L., 1995. Formulação e Avaliação Físico-Química e Reológica de Geléias de Baixo Teor de Sólidos Solúveis com Diferentes Adoçantes e Edulcorantes. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 15 (3): 268-278.

Cândido, L. M. B., Campos, A. M., 1996. Alimentos para fins especiais: dietéticos. São Paulo: Varela, 423 p.

Carakostas, M., Curry, L., Boileau, A., & Brusick, D., 2008. Overview: The history, technical function and safety of rebaudioside A, a naturally occurring steviol glycoside, for use in food and beverages. *Food and Chemical Toxicology*, 46, S1–S10.

Cardello, H. M. A. B., Silva, M. A. A. P., Damásio, M. H., 2000. Aspartame, ciclamato/sacarina e estévia em equivalência de doçura à sacarose em solução a 3%: comparação sensorial por análise tempo-intensidade. *Brazilian Journal of Food Technology*. Campinas v. 3 p. 107-113.

Castro, A., 2003. Hidratos de carbono. In: Castro, A.G. (Coord.) et al. *A química e a reologia no processamento dos alimentos*. Lisboa: Instituto Piaget, p. 167-202.

Cavaco, T., Longuinho, C., Quintas, C., & De Carvalho, I. S., 2007. Chemical and microbial changes during the natural fermentation of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits. *Journal of Food Biochemistry*, 31(6), 715–725.

Celikel, G., Demirsoy, L., Demirsoy, H., 2008. The strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) selection in Turkey. *Sci. Hort.* 118, 115–119.

Chamnivikaipong, J., Samitasiri, Y. e Sukehotiratana, M., 1991. Effect of stevioside from stevia on the reproductive system of wistar female rat. In: *Stevia Research, Proceedings from the First Stevia Research Symposium* (M. Suttajit, A. Apisariyakul, D. Buddhasukh, M. Sukehotiratana, N. Chokethaworn, A. Monosroi, and Vinetketkumnuan, Eds.), May 9-10,1990, Chiang Mai, Thailand, pp.94-100.

Chan P, Tomlinson B, Chen YJ, 2000. A double-blind placebocontrolled study of the effectiveness and tolerability of oral stevioside in human hypertension. *Br J Clin Pharmacol* 50:215-220.

Chatsudthipong, V., & Muanprasat, C., 2009. Stevioside and related compounds: Therapeutic benefits beyond sweetness. *Pharmacology & Therapeutics*, 121, 41–54.

Chen J, Jeppesen PB, Abudula R, Dyrskog SE, Colombo M, Hermansen K., 2006. Stevioside does not cause increased basal insulin secretion or beta-cell desensitization as does the sulphonylurea, glibenclamide: studies in vitro. *Life Sci*; 78: 1748–1753.

CIE, Commission Internationale de l'Éclairage, 1986. Colorimetry. 2nd ed. Vienna: CIE Publication, 78p.

Cornara, L., La Rocca, A., Marsili, S., & Mariotti, M., 2009. Traditional uses of plants in the Eastern Riviera (Liguria, Italy). *Journal of Ethnopharmacology*, 125, 16–30. de la Fuente, E., Sanz, M., Martínez-Castro, I., Sanz, J., & Ruiz-Matute, A. (2007). Volatile and carbohydrate composition of rare unifloral honeys from Spain. *Food Chemistry*, 105, 84–93.

Crammer, B., & Ikan, R., 1987. Progress in the chemistry and progress of the rebaudiosides. In T. Grenby (Ed.), *Developments in Sweeteners* (pp. 45–64). London, UK: Elsevier Applied Science.

Crammer, B., and Ikan, R., 1986 Sweet glycosides from the stevia plant. *Chem. Britain* 22: 10915-10918.

Curi, R., Alvarez, M., Bazotte, R. B., Botion, L. M., Godoy, J. L., & Bracht, A., 1986. Effect of *Stevia rebaudiana* on glucose tolerance in normal adult humans. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 19, 771–774.

Das, K., Dang, R., & Shivananda, T., 2006. Effect of N, P and K fertilizers on their availability in soil in relation to the Stevia plant (*Stevia rebaudiana* Bert.). *Archives of Agronomy and Soil Science*, 52, 679–685.

Debnath, M., 2008. Clonal propagation and antimicrobial activity of an endemic medicinal plant *Stevia rebaudiana*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2, 45–51.

Decreto-Lei nº 121/98 de 8 de Maio. *Diário da República, 1.ª série - A — N.º 106*. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e Pescas.

Decreto-Lei nº 192/89 de 8 de Junho. *Diário da República, 1.ª série — N.º 131*. Ministério da Agricultura, Pescas e Alimentação.

Decreto-Lei nº 230/2003 de 27 de Setembro. *Diário da República, 1.ª série - A — N.º 224*. Ministério da Agricultura, Desenvolvimento Rural e Pescas.

Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto. *Diário da República, 1.ª série — N.º 164*. Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional.

Decreto-Lei nº 35846/46 de 2 de Setembro. *Diário da República, 1.ª série — N.º 198*. Ministério da Economia. Direcção Geral dos Serviços Agrícolas.

Decreto-Lei nº 97/84 de 28 de Março. *Diário da República*, 1.^a série — N.º 74. Presidência do Conselho de Ministros e Ministérios da Agricultura, Florestas e Alimentação, do Comércio e Turismo e da Qualidade de Vida.

Devasagayam, T., Tilak, J., Boloor, K., Sane, K., Ghaskadbi, S., & Lele, R. (2004). Free radicals and antioxidants in human health: Current status and future prospects. *Journal of the Association of Physicians of India*, 52, 794–804.

DGS, 2008. Programa nacional de prevenção e controlo da Diabetes. Direcção Geral de Saúde, Lisboa 2008.

Dufty, W., *Sugar Blues: O gosto amargo do açúcar*, 7a. Ed. São Paulo, Editora Ground. 1975. págs 13 a 93.

El Haouari, M., López, J.J., Mekhfi, H., Rosado, J.A., Salido, G.M., 2007. Antiaggregant effects of *Arbutus unedo* extracts in human platelets. *J. Ethnopharmacol.* 113, 325-331.

El-Hilaly, J., Hmammouchi, M., & Lyoussi, B. (2003). Ethnobotanical studies and economic evaluation of medicinal plants in Taounate province (Northern Morocco). *Journal of Ethnopharmacology*, 86, 149–158.

Esteves, P. F. C. S. S., 2011. *Obesidade – Revisão Bibliográfica*. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Medicina (Ciclo de estudos integrado). Universidade da Beira Interior, Ciências da Saúde. Covilhã.

Fellows, P., 2006. *Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e práticas*. 2 ed. Porto Alegre: Artmed.

Fennema, O., 1996. *Food Chemistry*. 3. ed. New York: Marcel Dekker.

Finer, N. 1989. Are sweeteners really useful to diabetics? In: Grenby, T. H. *Progress in Sweeteners*. London: Elsevier Applied Science; p. 215 - 239.

Fiorentino, A., Castaldi, S., D’Abrosca, B., Natale, A., Carfora, A., Messere, A., Monaco, P., 2007. Polyphenols from the hydroalcoholic extract of *Arbutus unedo* living in a monospecific Mediterranean woodland. *Biochem. Syst. Ecol.* 35, 809–811.

Food Ingredients, 2011. *Food Ingredients Brasil*. Nº18, revista-fi.

Food Ingredients, 2013. *Food Ingredients Brasil*. Nº24, revista-fi.

Fortalezas, S., Tavares, L., Pimpão, R., Tyagi, M., Pontes, V., Alves, P.M., McDougall, G., Stewart, D., Ferreira, R.B., Santos, C.N., 2010. Antioxidant properties and neuroprotective capacity of strawberry tree fruit (*Arbutus unedo*). *Nutrients* 2, 214–229.

Francis S. Greenspan DGG. *Endocrinologia Básica e Clínica*. Sétima ed.: Mc Graw-Hill; 2006.

Freire, M., Cannon, G., Sheiham, A., *Análise das Recomendações Internacionais Sobre o Consumo de Açúcares Publicadas entre 1961 e 1991*. *Rev. Saúde Pública*, vol.28, no.3, Jun 1994

Frota AC. Obesidade: uma doença crónica ainda desconhecida. In: Saúde SdPePd, editor.: Direcção Geral da Saúde; 2007. p. 16.

Fujita, H., and Edahiro, T. Safety and utilization of stevia sweetener. *Shokukin Kogyo* 82(22): 65-72 (1979).

Galego L. R., Martins A. N., Almeida V. R., 1995. Valorização da Aguardente de Medronho - Estudo do Processo Tecnológico, Actas do VIII Congresso do Algarve, Vilamoura, p. 685-691.

Ganhao, R., Morcuende, D., & Estevez, M. (2010). Protein oxidation in emulsified cooked burger patties with added fruit extracts: Influence on colour and texture deterioration during chill storage. *Meat Science*, 85(3), 402–409.

Gardana, C., Scaglianti, M., & Simonetti, P. (2010). Evaluation of steviol and its glycosides in *Stevia rebaudiana* leaves and commercial sweetener by ultra highperformance liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217, 1463–1470.

Geuns, J. (2003). Stevioside. *Phytochemistry*, 64, 913–921.

Ghanta, S., Banerjee, A., Poddar, A., Chattopadhyay, S., 2007. Oxidative DNA damage preventive activity and antioxidant potential of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, a natural sweetener. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 55, pp 10962-10967

Gilman, E.F., Watson, D.G. 1993. *Arbutus unedo* Strawberry tree. Forest Service, Department of Agriculture. Florida, Fact Sheet ST-85.

Glicksman, M., 1982. Food hydrocolloids. New York: Academic Press, v. 2, p. 159-189.

Glinsukon, T., Pimbua, J., and Panichkul, T. Stevioside: a natural sweetener from *Stevia rebaudiana* Bertoni: toxicological evaluation. *Thai J. Toxicol.* 4: 1-22 (1988).

Godoy, R., 2010. Estudo das variáveis de processo em doce de banana de corte elaborado com variedade resistente à Sigatoka-negra. 256 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Curitiba.

Gomes, Carla; 2006. Validação do método de análise de espectrofotometria de absorção atómica/emissão de chama para determinação de minerais na fermentação de medronho (*Arbutus unedo* L.). Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade do Algarve.

González, J.C.; Janin, G.; Santoro, A.C.S.; Costa, A.F.; Valle, A.T., 2001. Colorimetria quantitativa: Uma técnica objetiva de determinar a cor da madeira. *Brasil. Florestal*, n.72, p.47-58.

González-Tejero, M.R., 1990. Investigaciones etnobotánicas en la provincial de Granada. Ph.D. Thesis. University of Granada.

Goyal, S., Samsher & Goyal, R. (2010). *Stevia (Stevia rebaudiana)* a bio-sweetener: A review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 61, 1–10.

Graca, J., Custodio, S., 2000. Caracterizacao da Fileira da Alfarroba. In: Sistemas Agrarios Tradicionais no Algarve. Contributos para o seu Estudo. Direccao Regional de Agricultura do Algarve. Faro, Portugal, pp. 99–157.

Grilo, M. R. M., Sousa, C., McIntyre, T., 2008. Conhecimento do diabético sobre a doença e a repercussão no tratamento. *Revista Brasileira em Promoção da Saúde*.

Grosso, C. F., 1992. Efeito de diferentes açúcares, pectinas e ligações de água na formação de géis pécticos. Campinas. 116f. Dissertação (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

Gruendel S, Garcia AL, Otto B, Mueller, C., 2006. Carob pulp preparation rich in insoluble dietary fiber and polyphenols enhances lipid oxidation and lowers postprandial acylated ghrelin in humans. *J. Nutr.*, v. 136(6):1533-1538.

Gunther, M., 1981. Frutas y derivados. In: Gunther et al. *Microbiologia de los alimentos vegetales*. Zaragoza, Acribia, p. 1-24.

Hark, L., Deen, D., 2005. *Saúde e Nutrição*.

Haug, A.; Larsen, B.; Smidsrod, O., 1966. *Acta Chemica Scandinavica*, 20, p. 183.

Hoef, R. V., 2006. Innovative pectin creates innovative fruit based products. *Food Marketing & Technology*, Copenhagen. v. 20, n. 3 p. 1-12.

Hsieh, M., Chan, P., Sue, Y., Liu, J., Liang, T., Huang, T., 2003. Efficacy and tolerability of oral stevioside in patients with mild essential hypertension: A two-year, randomized, placebo-controlled study. *Clinical Therapeutics*, 25, 2797–2808.

IDF, 2011. 5th IDF Diabetes Atlas; International Diabetes Federation (2012 act.)

II, 2013. alginato. In *Infopédia* [Em linha]. Porto: Porto Editora, 2003-2013. [Consult. 2013-08-30]. Disponível na www: <URL: [http://www.infopedia.pt/\\$alginato](http://www.infopedia.pt/$alginato)>.

INE, 2008. Estatísticas Agrícolas 2007. Instituto Nacional de Estatística. ISSN 0079-4139.

INE, 2010. Estatísticas Agrícolas 2009. Instituto Nacional de Estatística. ISSN 0079-4139.

INE, 2011. Estatísticas Agrícolas 2010. Instituto Nacional de Estatística. ISSN 0079-4139.

INE, 2012. Estatísticas Agrícolas 2011. Instituto Nacional de Estatística. ISSN 0079-4139.

INE, 2013. Estatísticas Agrícolas 2012. Instituto Nacional de Estatística. ISSN 0079-4139.

Instituto do Consumidor, 2004. Guia: Nutrientes, Aditivos e Alimentos. Faculdade de Ciências da Nutrição e da Alimentação da Universidade do Porto. ISBN 972-8715-25-0.

Jackix, M. 1988. Doces, geléias e frutas em calda. Coleção Ciência e Tecnologia ao alcance de todos. Série Tecnologia de Alimentos. Campinas: Editora Ícone, 64p. Unicamp.

Jayaraman, S., Manoharan, M., & Illanchezian, S., 2008. In-vitro antimicrobial and antitumor activities of *Stevia rebaudiana* (Asteraceae) leaf extracts. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 7, 1143–1149.

JECFA, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 2006. Steviol Glycosides [Addendum to stevioside]. In: Safety Evaluation of Certain Food Additives: Sixtythird Meeting of the Joint FAO/WHO Expert on Food Additives, June 8–17, 2005, Geneva. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)/World Health Organization (WHO); Geneva, WHO Food Additives Series, No. 54, pp. 117–144&638.

Jeppesen PB, Gregersen S, Alstrup KK, 2002. Stevioside induces antihyperglycaemic, insulinotropic and glucagonostatic effects in vivo: Studies in the diabetic Goto-Kakizaki (GK) rats. Phytomedicine 9:9-14.

Jeppesen PB, Gregersen S, Poulsen CR, 2000. Stevioside acts directly on pancreatic beta cells to secrete insulin: Actions independent of cyclic adenosine monophosphate and adenosine triphosphate-sensitive K⁺-channel activity. Metabolism 49:208-214.

Jeppesen PB, Gregersen S, Rolfsen SE, 2003. Antihyperglycemic and blood pressure-reducing effects of stevioside in the diabetic Goto-Kakizaki (GK) rat. Metabolism 52:372-378.

Joint Food and Agriculture Organization/World Health Expert Committee on Food Additives, 2005. Evaluation of certain food additives (Rep. No. 63). Geneva: World Health Organization.

Jouad, H. - Haloui, M. - Rhiauani, H. - El Hilaly, J. - Eddouks, M., 2001. Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the North centre region of Morocco (Fez–Boulemane). Journal of Ethnopharmacology, 77, pp. 175-182.

Kaila B, Raman M., 2008. Obesity: a review of pathogenesis and management strategies. Can J Gastroenterol. Jan;22(1):61-8.

Karikas GA, Giannitsaros A. 1990. Glucosides phenoliques des feuilles d'Arbutus unedo. Plant Med Phytother XXIV 1: 27–30.

Kaushik, R.; Pradeep, N.; Vasudevan, V.; Geetha, M.; Usha, A., 2010. Nutrient composition of cultivated stevia leaves and the influence of polyphenols and plant on sensory and antioxidant properties of leaf extracts. Journal of Food Science Technology. 47, p. 27-33."

Khair, M., El-Shatnawi, J., Ereifej, K.I., 2001. Chemical composition and livestock ingestion of carob (*Ceratonia siliqua* L.) seeds. Journal of Range Management 54, 669–673.

Kim, J., Choi, Y.H., Choi, Y.-H., 2002. Use of stevioside and cultivation of *Stevia rebaudiana* in Korea. In: Kinghorn, A.D. (Ed.), Stevia, the Genus Stevia. Medicinal and Aromatic Plants - Industrial Profiles, Vol. 19. Taylor and Francis, London and NY, pp. 196–202."

Kinghorn AD, Kaneda N, Baek NI, Kennelly EJ, Soejarta DD, 1998. Noncariogenic intense natural sweeteners. *Med. Chem. Res. Rev.*;18:347-360."

Kinghorn, A. D., & Soejarto, D. D., 1985. Current status of stevioside as a sweetening agent for human use. In H. Wagner, H. Hikino, & N. R. Farnsworth (Eds.), *Economic and medical plant research Vol. 1* (pp. 1–52). London: Academic Press.

Kinghorn, A. D., & Soejarto, D. D., 2002. Discovery of terpenoid and phenolic sweeteners from plants. *Pure Appl Chem* 74(7), 1169–1179.

Kivçak, B., Mert, T., 2001. Quantitative determination of α -tocopherol in *Arbutus unedo* by TLC-densitometry and colorimetry. *Fitoterapia* 72, 656–661.

Kochikyan, V., Markosyan, A., Abelyan, L., Balayan, A., & Abelyan, V., 2006. Combined enzymatic modification of stevioside and rebaudioside A. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 42, 31–37.

Koyama E, Kitazawa K, Ohori Y, 2003. In vitro metabolism of the glycosidic sweeteners, stevia mixture and enzymatically modified stevia in human intestinal microflora. *Food Chem Toxicol*;41:359-374.

Koyama E, Sakai N, Ohori Y, 2003. Absorption and metabolism of glycosidic sweeteners of stevia mixture and their aglycone, steviol, in rats and humans. *Food Chem Toxicol*;41:875-883.

Kretchmer, N., Hollenberck, C. B., 1991. Sugar and sweeteners. Boca Raton: CRC Press. P. 257-285.

Lagarto, V., Gomes, F., Franco, J. e Oliveira, F. 2013. Estudo de mercado sobre as potencialidades dos medronho na região centro. *Agrotec*, 6:78-82.

Leão, A.C., Araújo, A. de A. e Souza, 2005. L.A.C. “Implementação de Sistema de Gerenciamento de Cores para Imagens Digitais”. Editora PUC-Minas, Poços de Caldas, MG, Brazil, cap. 3, pp. 61-96.

Lee, C. N., Wong, K., Liu, J., Chen, Y., & Chan, P., 2001. Inhibitory effect of stevioside on calcium influx to produce antihypertension. *Planta Medica*, 67, 796–799."

Leonti, M., Casu, L., Sanna, F., & Bonsignore, L., 2009. A comparison of medicinal plant use in Sardinia and Sicily—De Materia Medica revisited? *Journal of Ethnopharmacology*, 121, 255–267

Lidon, F. J. C. e Silvestre, M. M. A. S. F, 2007. *Indústrias Alimentares – Aditivos e Tecnologias*. Escolar Editora. Lisboa. ISBN 978-972-592-203-3.

Lindhorst, T., 2007. *Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, First Edition, Wiley-VCH, ISBN: 978-3-527-31528-4

Luck, E., Jager, M., 2000. *Conservación química de los alimentos: características, usos, efectos*. Zaragoza: Acribia.

Maki, K., Curry, L., Reeves, M., Toth, P., Mckenney, J., Farmer, M., 2008. Chronic consumption of rebaudioside A, a steviol glycoside, in men and women with type 2 diabetes mellitus. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 47–53.

Makris, D., Kefalas, P., 2004. Carob pods (*Ceratonia siliqua* L.) as a source of polyphenolic antioxidants. Food Technol. Biotechnol. 42 (2), 105–108."

Males, Z., Plazibat, M., Vundac, V.B., Zunta, I., 2006. Qualitative and quantitative analysis of flavonoids of the strawberry tree – *Arbutus unedo* L. (Ericaceae). Acta Pharm. 56, 245–250.

Mariotto, S., Esposito, E., Di Paola, R., Ciampa, A., Mazzon, E., Carcereri de Prati, A., Darra, E., Vincenzo, S., Cucinotta, G., Caminiti, R., Suzuki, H., Cuzzocrea, S., 2008. Protective effect of *Arbutus unedo* aqueous extract in carrageenan-induced lung inflammation in mice. Pharmacol. Res. 57, 110–124.

Mariz, S. R., Midio, A. F., 2000. Aspectos toxicológicos dos adoçantes artificiais. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 34, n. 2, p. 93-98.

Mekhfí, H., El Haouari, M., Bnouham, M., Aziz, M., Ziyat, A., Legssyer, A., 2006. Effects of extracts and tannins from *Arbutus unedo* leaves on rat platelet aggregation. Phytother. Res. 20, 135–139.

Melchiades, F.G.; Boschi, A.O., 1999. Cores e tonalidades em revestimentos cerâmicos. Cerâmica Industrial, v.4, p.1-6.

Mendonça, C. R. B., Zambiasi, R. C., Gularte, M. A., Granada, G. G., 2005. Características Sensoriais de Compotas de Pêssego *Light* Elaboradas com Sucralose e Acesulfame-K. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, v. 25, n. 3, p. 401-407.

Mishra, P., Singh, R., Kumar, U., & Prakash, V., 2010. *Stevia rebaudiana* – A magical sweetener. Global Journal of Biotechnology & Biochemistry, 5, 62–74.

Mori, N., Sakanoue, M., Takuchi, M., Shimpo, K., & Tanabe, T., 1981. Effect of stevioside on fertility in rats. Journal of the Food Hygienic Society of Japan, 22, 409–414.

Morris, W. C., 2006. Low or no sugar in jams, jellies and preserves. Agricultural Extension Service. p. 1-3.

Morrison, R., Boyd, R., 2009. Química Orgânica. Lisboa: Ed.15 Fundação Calouste Gulbenkian.

Nammi S, Koka S, Chinnala KM, Boini KM., 2004. Obesity: an overview on its current perspectives and treatment options. Nutr J. Apr 14;3:3.

Nitzke, J., Machado, C., 2004. Desenvolvimento de Geléia Diet - Aspectos Tecnológicos. In: XVII Congresso Brasileiro de Tecnologia de Alimentos. UFRS.

Noronha, J. F., 2003. Análise Sensorial – Metodologia. Apontamentos de Análise Sensorial. Versão 1.0, 20/01/03. Escola Superior Agrária de Coimbra.

Novais, M., Santos, I., Mendes, S., Pinto-Gomes, C., 2004. Studies on pharmaceutical ethnobotany in Arrabida Natural Park (Portugal). Journal of Ethnopharmacology, 93, 2004, pp. 183–195. Obesity and overweight. World Health Organization; 2011

NP 1409, 1987. Norma Portuguesa de 31 de Agosto. *Diário da República, III Série* — N.º 199. Instituto Português da Qualidade, Lisboa.

NP 2309-2, 1988. Norma Portuguesa de 20 de Abril. *Diário da República, III Série* — N.º 92. Instituto Português da Qualidade, Lisboa.

NP 3277-1, 1987. Norma Portuguesa de 22 de Setembro. *Diário da República, III Série* — N.º 218. Instituto Português da Qualidade, Lisboa.

Oetterer, M., Sarmiento, S., 2006. Propriedade dos açúcares. In: Oetterer et al. Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos. Barueri: Manole, p. 135-564.

Oliveira, I. V., 2010. Caracterização fitoquímica de folhas e frutos de *Arbutus unedo* L. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Qualidade e Segurança Alimentar. Instituto Politécnico de Bragança. Escola Superior Agrária de Bragança.

Oliveira, I., Baptista, P., Bento, A., Pereira, J.A., 2011a. *Arbutus unedo* L. and its benefits on human health. *J. Food Nutr. Res.* 50, 73–85.

Oliveira, I., Baptista, P., Malheiro, R., Casal, S., Bento, A., Pereira, J.A., 2011b. Influence of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruit ripening stage on chemical composition and antioxidant activity. *Food Res. Int.* 44, 1401–1407.

Oliveira, I., Coelho, V., Baltasar, R., Pereira, J.A., Baptista, P., 2009. Scavenging capacity of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaves on free radicals. *Food Chem. Toxicol.* 47, 1507–1511.

Organization WH, 2000. Obesity: Preventing and managing the global epidemic.

Özcan MM, Haciseferoğullari H. 2007. The strawberry (*Arbutus unedo* L.) fruits: Chemical composition, physical properties and mineral contents. *J Food Eng* 78: 1022–1028.

Pabuçcuoğlu A, Kivçak B, Baş M, Mert T. 2003. Antioxidant activity of *Arbutus unedo* leaves. *Fitoterapia* 74: 597–599.

Pallauf, K., Rivas-Gonzalo, J.C., del Castillo, M.D., Cano, M.P., Pascual-Teresa, S., 2008. Characterization of the antioxidant composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits. *J. Food Compos. Anal.* 21, 273–281.

Paschoalino, J. E., 1989. Introdução e enlatamento de hortaliças. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos. Manual Técnico, 4. p. 1-3.

Patrão, M. C. L., 2011. Auto-eficácia em pessoas com diabetes mellitus tipo 2 insulinotratadas. Dissertação de Candidatura ao Grau de Mestre em Saúde Pública. Faculdade de Medicina. Universidade de Coimbra

Pawlowska, A.M., De Leo, M., Braca, A., 2006. Phenolics of *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) fruits: identification of anthocyanins and gallic acid derivatives. *J. Agric. Food Chem.* 54, 10234–10238.

Penny, C., 1992. Sweetness with calorie reduction. *Food Ingredients & Processing International*, Rickmansworth, p. 1-19.

Plano Nacional de Saúde 2011-2016: “Prevenção da Diabetes e a Promoção da Saúde”.

Poiani, L.M.; Borges, M.T.M.; Vilas Boas, E.V.B.; Lichtemberg, L.A.; Godoy, R.C.B., 2008. Aproveitamento industrial dos descartes de pós-colheita. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 29, n. 245, p. 111-119, jul./ago.

Pól, J., Hohnová, B., & Hyötyläinen, T., 2007. Characterization of *Stevia rebaudiana* by comprehensive two-dimensional liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 1150, 85–92.

Pól, J., Ostra, E. V., Karasek, P., Roth, M., Karolinka, B., Kotlarikova, P., 2007b. Comparison of two different solvents employed for pressurised fluid extraction of stevioside from *Stevia rebaudiana*: Methanol versus water. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 388, 1847–1857.

PREVADIAB, 2010. First diabetes prevalence study in Portugal: PREVADIAB study; Diabet Med. 2010 Aug;27 (8):879-81.

Rauch, G., 1965. Jam manufacture. London: Leonard Hill Books, 191 p.

Regand, A.; Goff, H.D., 2003. Food Hydrocolloids, 17, p. 95.

Regulamento (CE) nº 1333/2008 de 16 de Dezembro. *Jornal Oficial da União Europeia*, L 354/16. Parlamento Europeu e o Conselho da União Europeia.

Regulamento (UE) nº 1129/2011 de 11 de Novembro. *Jornal Oficial da União Europeia*, L 295/1. Comissão Europeia.

Regulamento (UE) nº 1131/2011 de 11 de Novembro. *Jornal Oficial da União Europeia*, L 295/206. Comissão Europeia.

Relatório anual do observatório nacional da Diabetes, 2010. “Diabetes: factos e nºs 2010. Relatório anual do observatório nacional da Diabetes”. Portugal

Rolin, C., 2002. Commercial pectin preparations. In: Seymour, G.B.; Knox, J.P. (Edit.). Pectins and their manipulation. Oxford: Blackwell, p. 222-239.

Ruiz-Rodríguez, B. M., Morales, P., Fernández-Ruiz, V., Sanchez-Mata, M. C., Cámara, M., Díez-Marqués, C., 2011. Valorization of wild strawberry-tree fruits (*Arbutus unedo* L.) through nutritional assessment and natural production data. Food Research International, 44, 1244–1253.

Sakar, M.K., Berkman, M.Z., Cals, I., Ruedi, P., 1991. Constituents of *Arbutus andrachne*. Fitoterapia 62 (2), 176–177

Santos, A. et al., 2005. Production of dextran and fructose from carob pod extract and cheese whey by *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B512(f) Biochemical Engineering Journal, 25, pp. 1–6

Sehar, I., Kaul, A., Bani, S., Pal, H., & Saxena, A., 2008. Immune up regulatory response of a non-caloric natural sweetener, stevioside. Chemio-Biological Interactions, 173, 115–121."

Sérgio AFC, Breda J, Medina JL, Carvalheiro M, Almeida MDV, Dias T, 2005. Programa Nacional de Combate á Obesidade. In: Divisão de Doenças Genéticas CeG, editor.: Direcção Geral da Saúde.

- Serio, L., 2010. La *Stevia rebaudiana*, une alternative au sucre. *Phytothérapie*, 8, 26–32.
- Shukla, S., Mehta, A., Mehta, P., & Bajpai, V., 2011. Antioxidant ability and total phenolic content of aqueous leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bert. *Experimental and Toxicologic Pathology*.
- Siguemoto, A. T., 1991. Propriedades de pectina – Braspectina. In: Soler, M. P. (Coord.). *Industrialização de geléias*. ITAL. Manual Técnico, 7. Campinas. p.48-68.
- Siguemoto, A. T., 1993. Propriedades de pectina – Braspectina. *Anais do Simpósio sobre Hidrocolóides*. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos.
- Silliman, K.; Coulston, A. M., 1991. Sugars in the diet. In: KRETCHMER, Norman; HOLLENBECK, Clarie B. *Sugars and Sweeteners*. Boca Raton: CRC Press. p. 17 - 35.
- Simonetti, M., Damiani, F., Gabrielli, L., Cossignani, L., Blasi, F., & Marini, F., 2008. Characterization of triacylglycerols in *Arbutus unedo* L. Seeds. *Italian Journal of Food Science*, 20, 49–56.
- Sivaram, L., & Mukundam, U., 2003. In vitro culture studies on *Stevia rebaudiana*. In
- Soejarto DD, Kinghorn AD, Farnsworth NR: Potential sweetening agent of plant origin III: Organo leptic evaluation of *Stevia* leaf herbarium samples for sweetness. *J Nat Prod* 45:590-599, 1982
- Soler, M., 1991. Processamento industrial. In: Soler, M. P. (coord). *Industrialização de geléias*. ITAL. Manual Técnico, 7. Campinas: ITAL, p.1-20.
- Soufleros, E. H., Mygdalia, S. A., & Natskoulis, P., 2005. Production process and characterization of the traditional Greek fruit distillate “Koumaro” by aromatic and mineral composition. *Journal Food Composition and Analysis*, 18, 699–716.
- Stabile, M. N. O., 1991. Uso de edulcorantes em alimentos. In: Baruffaldi, Stabile. *Tecnologia de Alimentos dietéticos: edulcorantes*. São Paulo: EDUSP, p. 56-71.
- Suanarunsawat T, Chaiyabutr N., 1997. The effect of stevioside on glucose metabolism in rat. *Can J Physiol Pharmacol* 75:976-982.
- Tadhani, M., & Subhash, R., 2006. Preliminary studies on *Stevia rebaudiana* leaves: Proximal composition, mineral analysis and phytochemical screening. *Journal of Medical Sciences*, 6, 321–326.
- Tama Biochemical Co. Ltd., 1981. *Safety of Stevia*. Tokyo, Japan, pp. 1-20.
- Tavares, L., Fortalezas, S., Carrilho, C., McDougall, G., Stewart, D., Ferreira, R.B., Santos, C.N., 2010. Antioxidant and antiproliferative properties of strawberry tree tissues. *J. Berry Res.* 1, 3–12.
- Tomita, T., Sato, N., Arai, T., Shiraishi, H., Sato, M., Takeuchi, M., Kamio, Y., 1997. *Microbiol. Immunol.*, 41, p. 1,005
- Torrezan, R., 1998. Manual para a produção de geléias de frutas em escala industrial. EMBRAPA-CTAA. Documentos, 29. Rio de Janeiro: EMBRAPA – CTAA, 27 p.

Toskulkao, C., Sutheerawatananon, M., Wanichanon, C., Saitongdee, P., & Suttagit, M., 1995. Effect of stevioside and steviol on intestinal glucose absorption hamsters. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 41, 105–113.

Tucakov J. 1997. Lečenje biljem, 7th edn. Rad: Beograd.

Tucker, S.C., 1992. The development basis for sexual expression in *Ceratonia siliqua* L. (Leguminosae: Caesalpinioideae: Cassieae). *Am. J. Bot.* 79, 318–327.

Turquois, T.; Rinaudo, M.; Taravel, F.R.; Heyraud, A., 1999. Extraction of highly gelling pectic substances from sugar beet pulp and potato pulp: influence of extrinsic parameters on their gelling properties. *Food Hydrocolloids*, v.13, p.255-262.

Uwaifo GI, 2011. Obesity. E-Medicine; Disponível em: <http://emedicine.medscape.com/article/123702-overview>.

Versini, G., Seeber, R., Dalla Serra, A., Sferlazzo, G., Carvalho, B., & Reniero, F., 1995. Aroma compounds of arbutus distillate. In G. Charalambous (Ed.), *Food flavors generation, analysis and process influence* (pp. 1779–1790). London: Elsevier Science.

Vibhakara, H.S.; Bawa, A.S., 2006. Manufacturing jams and jellies. In: Hui, Y.H.; Barta, J.; Cano, M.P.; Gusek, T.W.; Sidhu, J.S.; Sinha, N. (Edit.). *Handbook of fruits and fruit processing*. Ames, Iowa: Blackwell Publishing. p. 189- 204.

Virendra, V., & Kalpagam, P., 2008. Assessment of Stevia (*Stevia rebaudiana*) - natural sweetener: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 45, 467–473.

Wallin, H., 2007. Steviol glycosides. 63rd Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) – Chemical and Technical Assessment (CTA) (pp. 1–8).

Wang, Z.Y.; Zhang, Q.Z.; Konno, M.; Saito, S., 1994. *Biopolymers*, 34, p. 737.

Wells, A. G., 1989. The use of intense sweeteners in soft drinks. In: Grenby. *Progress in sweeteners*. London: Elsevier. P. 169-214.

Whistler, R, Daniel, J., 1985. Carbohydrates. In: Fennema, O.R. *Food Chemistry*. 2 ed. New York: Marcel Dekker, p.70-125.

Wicsenborn, D.P.; Wang, J.; Chang, K.C.; Schwarz, J.G., 1999. Comparison of continuous and batch processes for pectin extration from sunflower heads. *Insdustrial crops and Products*, v.19, p.171-181.

Wingard RE Jr, Brown JP, Enderlin FE, Dale JA, Hale RL, Seitz CT, 1980. Intestinal degradation and absorption of the glycosidic sweeteners stevioside and rebaudioside A. *Experientia*; 36: 519–520.

World Health Organization, 2000. Report on Infectious Diseases 2000: Overcoming Antimicrobial Resistance, Available at URL: <http://www.who.int/infectiousdisease-report/2000/> (accessed 17.06.13).

World Health Organization, 2006. What are the health consequences of being overweight? Disponível em: <http://www.who.int/features/qa/49/en/index.html>.

World Health Organization, 2011. Obesity and overweight. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.

Xili, L., Chengjiany, B., Eryi, X., Reiming, S., Yuengming, W., Haodong, S., Zhiyian, H., 1992. Chronic oral toxicity and carcinogenicity study of stevioside in rats. *Food Chem. Toxicol.* 30, 957-965.

Yavaşer, R., Çetinyürek, F., Uygun, D.A., Karagözler, A. A., 2010. Investigation of antioxidant properties of *Arbutus unedo* L. fruit 6th Conference Aromatic and Medicinal Plants of Southeast European Countries, CMAPSEEC, Antalya, Turkey, p. Abst 102.

Yodyingyuad, V., & Bunyawong, S., 1991. Effect of stevioside on growth and reproduction. *Human Reproduction*, 6, 158–165.

Yokoi, H.; Obita, T.; Hirose, J.; Hayashi, S.; Takasaki, Y., 2002. Flocculation properties of pectin in various suspensions. *Bioresource Technology*, v.84, p.287-290.

Young LR, Nestle M., 2002. The contribution of expanding portion sizes to the US obesity epidemic. *Am J Public Health*. Feb;92(2):246-9.

Yousif, A., Alghzawi, 2000. Processing and characterization of carob powder *Food Chemistry*, 69 (2000), pp. 283–287

Ziyyat, A., Boussairi, E., 1998. Cardiovascular effects of *Arbutus unedo* L. in spontaneously hypertensive rats. *Phytother. Res.* 12, 110–113.

Ziyyat, A., Mekhfi, H., Bnouham, M., Tahri, A., Legssyer, A., Hoerter, J., Fischmeister, R., 2002. *Arbutus unedo* induces endothelium-dependent relaxation of the isolated rat aorta. *Phytother. Res.* 16, 572–575.

Zunft HJ, Luder W, Harde A, Haber B, Graubaum HJ, Koebnick C, Grunwald J., 2003. Carob pulp preparation rich in insoluble fibre lowers total and LDL cholesterol in hypercholesterolemic patients. *Eur. J. Nutr.* 42:235–242.

9. Anexos

Anexo I – Material e equipamento utilizado no controlo físico-químico do doce durante o estudo de tempo de vida útil

Tabela 28 - Material e equipamento utilizado nas análises físico-químicas

Nome do Equipamento	Marca	Modelo	País de Origem
Texturómetro	Stable Micro Systems	TA_XT Express Enhanced	Inglaterra
Higroscópio	Rotronic	Hygroskop BT + WT14	Suíça
Colorímetro	Minolta	CR – 200	Japão
Potenciómetro	Hanna Instruments	HI 9025	Portugal
Eléctrodo de pH	Hanna Instruments	HI 2031	Portugal
Refratómetro	ATC	107916 K	Dinamarca
Refratómetro	Reichert	Brix 50	Alemanha
Doseador automático (de NaOH)	Metrohm	665 Dosimai	Suíça

Anexo II – Materiais, equipamentos, soluções e meios de cultura utilizados no controlo microbiológico do doce durante o estudo de tempo de vida útil

Tabela 29 – Material, soluções e meios de cultura utilizados nas análises microbiológicas

Reagentes/Soluções	Material
Plate Count Agar (PCA), Marca Scharlau, Espanha	Caixas de Petri
Man, Rogosa and Sharpe, Marca Scharlau, Espanha	Espátulas
Rose Bengal Agar, Marca Scharlau, Espanha	Cuvetes
Agar	Espalhador e copo de vidro
Extrato de levedura, Marca Scharlau, Espanha	Balões de Shot
Tryptona, Marca Scharlau, Espanha	Balão de Erlenmeyer
Glucose, Marca Scharlau, Espanha	Magnete
K ₂ HPO ₄ , Marca Merck, Darmstadt	Provetas
Ringer, Marca Merck, Alemanha	Saco de Stomacher
Água destilada	Tubos de ensaio e suporte para tubos
Álcool	Placas de aquecimento com agitador magnético
	Pipetas e pontas
	Tabuleiro
	Bico de Bunsen
	Balança
	Banho térmico
	Papel Craft e fio
	Fita adesiva de autoclavagem
	Papel de alumínio
	Caneta de acetato

Anexo III - Preparação de amostras, meios de cultura e sementeiras através de Normas Portuguesas no controlo microbiológico do doce durante o estudo de tempo de vida útil

Preparação da amostra

A partir de cada amostra pesaram-se dez gramas, em condições de assepsia, para um saco de “Stomacher”, às quais se adicionaram 90 mL de solução de Ringer. Esta mistura foi levada ao “Stomacher” durante 30 s, obtendo-se assim a diluição 10^{-1} . A partir desta suspensão mãe executaram-se as diluições decimais sucessivas consideradas apropriadas. As diluições foram sendo ajustadas de acordo com os resultados obtidos.

A preparação da solução de Ringer é feita com uma pastilha de Ringer em 500 mL de água esterilizada e com um agitador magnético ajuda na sua dissolução.

Determinação do teor de mesófilos aeróbios totais (Norma portuguesa NP-1409 de 1987)

Para esta determinação utilizou-se o meio PCA[®] (Plate Count Agar), da marca Scharlau (Espanha), seguindo-se o procedimento descrito na norma portuguesa NP-1409 de 1987, que se aplica a frutos, produtos hortícolas e seus derivados. Esta norma destina-se a fixar a técnica para determinação do número total de microrganismos, por contagem de colónias desenvolvidas num meio de cultura sólido, após incubação a 30 °C em aerobiose.

Introduziu-se o meio PCA desidratado (23,5g /L) adicionando-se água destilada e dissolveu-se com ajuda de uma placa de aquecimento, agitando-se de vez em quando. É esterilizado na autoclave e depois o meio é mantido em banho-maria a cerca de 45 °C.

Em condições de assepsia, inocula-se uma caixa de Petri com 1 mL de cada uma das diluições escolhidas. Posteriormente adicionam-se cerca de 20 mL de meio de cultura, arrefecido a cerca de 45 °C. A sementeira é realizada por incorporação. Este procedimento é feito em duplicado. Após solidificar, as caixas de Petri são invertidas e incubadas durante 72 ± 3 horas em estufa à temperatura de 30 ± 1 °C.

Terminado o período de incubação, procede-se à contagem das colónias em cada caixa de Petri da mesma diluição, que contenha entre 30 a 300 colónias. O cálculo é feito através do número de microrganismos por grama ou cm^3 , a partir do número de colónias desenvolvidas.

Determinação do teor de bolores e leveduras (Norma portuguesa NP 3277-1 de 1987)

O meio CRB (Cook Rose Bengal), de marca Scharlau (Espanha), foi elaborado segundo a norma portuguesa NP 3277-1 de 1987, que destina-se a fixar o processo de determinação do número provável de bolores e leveduras viáveis a 25 ± 1 °C em géneros alimentícios.

O meio desidratado dissolve-se em água destilada (32g/L), com ajuda de uma placa de aquecimento e agitando-se de vez em quando até dissolução completa. Esteriliza-se em autoclave a 121 ± 1 °C durante 15 minutos.

Da suspensão-mãe e de cada uma das diluições a utilizar retira-se, assepticamente, 1 cm^3 que se distribui, à razão de $0,2\text{ cm}^3$ por caixa, em cinco caixas de Petri contendo meio de cultura. De seguida, espalha-se logo o inóculo muito bem sobre a superfície do meio com auxílio de um semeador/espalhador. Para cada uma das diluições deve utilizar-se uma pipeta diferente e o semeador é passado por álcool e à chama, mas para o semeador não queimar o meio, passa-se na tampa da caixa para arrefecer.

Após a sementeira, as caixas de Petri são incubadas a 25 ± 1 °C durante 120 ± 2 horas.

O teor microbiológico exprime-se em número de colónias de fungos por grama ou cm^3 do produto e é representado por um número compreendido entre 1,0 e 9,9 multiplicado por 10^n , sendo n o expoente apropriado da potência de 10.

Determinação do teor de bactéria lácticas (Norma portuguesa NP 2309-2 de 1988)

O meio de cultura MRS (Man, Rogosa e Sharpe), de marca Scharlau (Espanha), foi utilizado para pesquisa de bactérias lácticas foi realizado segundo a NP 2309-2, de 1988, que refere o processo de esterilidade das conservas alimentares através da pesquisa de microrganismos eventualmente presentes e sua caracterização.

Introduziu-se o meio MRS desidratado (67,3 g/L) dissolvendo-se em água destilada. Coloca-se o balão em cima de uma placa de aquecimento para ajudar na dissolução e agita-se de vez em quando. É esterilizado na autoclave e depois o meio é mantido em banho-maria a cerca de 45 °C.

Semeia-se, por cada uma das duas caixas de Petri, 1cm³ da suspensão-mãe e das diluições utilizando uma micropipeta e uma ponta diferente para cada diluição.

Em cada caixa de Petri coloca-se cerca de 15 a 20cm³ do meio de cultura arrefecido a cerca de 45 °C e mistura-se de acordo com a técnica de sementeira por incorporação. Após solidificar, as caixas de Petri são invertidas e incubadas durante 48 ±3 horas em estufa à temperatura de 37±1 °C.

Terminado o período de incubação, procede-se à contagem das colónias em cada caixa de Petri da mesma diluição, que contenha entre 30 a 300 colónias. O cálculo é feito através do número de microrganismos por grama ou cm³, a partir do número de colónias desenvolvidas.

Determinação do teor de *Bacillus thermoacidurans* (Norma portuguesa NP 2309-2 de 1988)

O meio de cultura BTA (*Bacillus thermoacidurans*), para pesquisa de *Bacillus thermoacidurans* foi realizado segundo a NP 2309-2, de 1988, que refere o processo de esterilidade das conservas alimentares através da pesquisa de microrganismos eventualmente presentes e sua caracterização.

Introduziu-se extrato de levedura (5g/L), peptona (5g/L), glucose (5g/L), K₂HPO₄ (4g/L) e água destilada num balão de Shot. Com um magnete e um agitador magnético ajuda-se na dissolução. De seguida ajusta-se o pH (com ácido, HCl, ou base, NaOH) para 5±0,1. Adiciona-se o Agar (20g/L) e coloca-se o balão numa placa de aquecimento para ajudar a dissolver, agitando de vez em quando. É esterilizado na autoclave e depois o meio é mantido em banho-maria a cerca de 45 °C.

Semeia-se, por cada uma das duas caixas de Petri, 1cm³ da suspensão-mãe e das diluições utilizando uma micropipeta e uma ponta diferente para cada diluição.

Em cada caixa de Petri coloca-se cerca de 15 a 20 cm³ do meio de cultura arrefecido a cerca de 45 °C e mistura-se de acordo com a técnica de sementeira por incorporação. Após solidificar, as caixas de Petri são invertidas e incubadas durante 120±2 horas em estufa à temperatura de 45±2 °C.

Terminado o período de incubação, procede-se à contagem das colónias em cada caixa de Petri da mesma diluição, que contenha entre 30 a 300 colónias. O cálculo é feito através do número de microrganismos por grama ou cm³, a partir do número de colónias desenvolvidas.

Anexo IV – Descrição e ficha da primeira prova sensorial

Elaborou-se uma folha de prova onde a pessoa desenhou um círculo em volta do respetivo código referente ao doce preferido.

Ficha de Análise Sensorial

Nome:

Data:

Ao receber duas amostras codificadas, identifique com um círculo a sua amostra preferida.

Amostras:

202

855

Comentários/Sugestões:

Anexo V – Descrição e ficha da segunda prova sensorial

A segunda prova sensorial aos doces de medronho, realizou-se em cabines de prova de modo a que os provadores tivessem um ambiente calmo e mais adequado para realizar esta prova.

Ao ser entregue os quatro doces num tabuleiro, juntou-se também a ficha de prova, um copo com água, guardanapo, colheres e uma caneta. A ficha de prova indica a avaliação de determinados parâmetros e refere como os provadores devem proceder durante prova. Ao receber as amostras de doce codificadas, os provadores observam, cheiram e provam cada uma delas da esquerda para a direita, respondendo à sua avaliação, uma de cada vez. Ao realizar a avaliação, o provador indica com uma cruz (X), na coluna do respetivo código, o valor correspondente à sua avaliação, numa escala hedónica de um a nove (desgostei extremamente a gostei extremamente), de determinadas características, como o aspeto visual, o aroma/odor, o sabor, a textura e a apreciação global; e numa escala de atitude de intenção de compra, de um a cinco (decididamente não compararia a decididamente que compraria). Por fim, avaliou-se a ordem de preferência onde o provador refere por ordem crescente, os códigos respetivos das amostras, do que menos preferiu para o que mais preferiu.

Ficha de Prova de Doces de Medronho com Baixo Teor de Açúcar

Idade: _____ anos

Data: 15/05/2013

Sexo: () F () M

N.º Cabine: _____

Tem na sua presença quatro amostras de doce de medronho com baixo teor de açúcar.

Ao receber as amostras codificadas, observe, cheire e prove cada uma delas da esquerda para a direita, respondendo à sua avaliação, uma de cada vez, verificando os códigos com atenção. Por favor, lave a boca com água, entre a prova das amostras.

1. Assinale com uma cruz (X) na coluna do respetivo código, o valor correspondente à sua avaliação de determinada característica (aspeto visual, aroma/odor, sabor, textura, apreciação global e intenção de compra) para cada amostra.

Aspeto Visual (Aparência e Cor)	Códigos das Amostras			
Valor de Avaliação	808	300	755	507
1 - Desgostei extremamente				
2 - Desgostei muito				
3 - Desgostei moderadamente				
4 - Desgostei ligeiramente				
5 - Nem gostei nem desgostei				
6 - Gostei ligeiramente				
7 - Gostei moderadamente				
8 - Gostei muito				
9 - Gostei extremamente				

Aroma / Odor	Códigos das Amostras			
Valor e Avaliação	808	300	755	507
1 - Desgostei extremamente				
2 - Desgostei muito				
3 - Desgostei moderadamente				
4 - Desgostei ligeiramente				
5 - Nem gostei nem desgostei				
6 - Gostei ligeiramente				
7 - Gostei moderadamente				
8 - Gostei muito				
9 - Gostei extremamente				

Sabor	Códigos das Amostras			
Valor e Avaliação	808	300	755	507
1 - Desgostei extremamente				
2 - Desgostei muito				
3 - Desgostei moderadamente				
4 - Desgostei ligeiramente				
5 - Nem gostei nem desgostei				
6 - Gostei ligeiramente				
7 - Gostei moderadamente				
8 - Gostei muito				
9 - Gostei extremamente				

Textura	Códigos das Amostras			
Valor e Avaliação	808	300	755	507
1 - Desgostei extremamente				
2 - Desgostei muito				
3 - Desgostei moderadamente				
4 - Desgostei ligeiramente				
5 - Nem gostei nem desgostei				
6 - Gostei ligeiramente				
7 - Gostei moderadamente				
8 - Gostei muito				
9 - Gostei extremamente				

Apreciação Global	Códigos das Amostras			
Valor e Avaliação	808	300	755	507
1 - Desgostei extremamente				
2 - Desgostei muito				
3 - Desgostei moderadamente				
4 - Desgostei ligeiramente				
5 - Nem gostei nem desgostei				
6 - Gostei ligeiramente				
7 - Gostei moderadamente				
8 - Gostei muito				
9 - Gostei extremamente				

Intenção de Compra	Códigos das Amostras			
Valor e Avaliação	808	300	755	507
1 – Decididamente não compraria				
2 – Provavelmente não compraria				
3 – Talvez sim / Talvez não				
4 – Provavelmente compraria				
5 – Decididamente compraria				

2. Coloque por ordem, do menos preferido para o mais preferido, os respetivos códigos das amostras.

(Menos preferida) _____ (Mais preferida)

Explique a razão da sua preferência:

Comentários:

Obrigada pela sua colaboração!

Anexo VI - Tabela com o número mínimo (crítico) de respostas corretas para os testes de diferença mais usuais a dois níveis de significância

Tabela 30 - Número mínimo (crítico) de respostas corretas para os testes de diferença mais usuais a dois níveis de significância para “n” provadores

n	Unilaterais						Bilateral	
	Duo-trio e Diferença Direccional		Triangular		Dois-em cinco		Diferença direccional	
	5%	1%	5%	1%	5%	1%	5%	1%
5	5	6	4	5	3	3	-	-
6	6	7	5	6	3	4	6	-
7	7	7	5	6	3	4	7	-
8	7	8	6	7	3	4	8	8
9	8	9	6	7	4	4	8	9
10	9	10	7	8	4	5	9	10
11	9	10	7	8	4	5	10	11
12	10	11	8	9	4	5	10	11
13	10	12	8	9	4	5	11	12
14	11	12	9	10	4	5	12	13
15	12	13	9	10	5	6	12	13
16	12	14	9	11	5	6	13	14
17	13	14	10	11	5	6	13	15
18	13	15	10	12	5	6	14	15
19	14	15	11	12	5	6	15	16
20	15	16	11	13	5	7	15	17
21	15	17	12	13	6	7	16	17
22	16	17	12	14	6	7	17	18
23	16	18	12	14	6	7	17	19
24	17	19	13	15	6	7	18	19
25	18	19	13	15	6	7	18	20
26	18	20	14	15	6	8	19	20
27	19	20	14	16	6	8	20	21
28	19	21	15	16	7	8	20	22
29	20	22	15	17	7	8	21	22
30	20	22	15	17	7	8	21	23
40	26	28	19	21	8	10	27	29
50	32	34	23	26	10	11	33	35
60	37	40	27	30	11	13	39	41
70	43	46	31	34	12	14	44	47
80	48	51	35	38	14	16	50	52
90	54	57	38	42	15	17	55	58
100	59	63	42	46	16	19	61	64

Fonte: Noronha, 2003.